



**UFU - UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA**

**AVALIAÇÃO DE NANOTUBOS DE CARBONO DE PAREDES MÚLTIPLAS E  
ALUMINA PARA DETERMINAÇÃO DE 4-CLOROANILINA**

**THAÍS GABRIEL CAMPOS VILELA**

**Uberlândia, Julho de 2019**

**THAÍS GABRIEL CAMPOS VILELA**

**AVALIAÇÃO DE NANOTUBOS DE CARBONO DE PAREDES MÚLTIPLAS E  
ALUMINA PARA DETERMINAÇÃO DE 4-CLOROANILINA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado para o curso de graduação do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para a obtenção do título de bacharel em Química Industrial.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz

Coorientadora: Doutoranda Ana Paula de Lima

**Uberlândia, Julho de 2019**

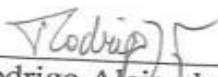
**THAÍS GABRIEL CAMPOS VILELA**

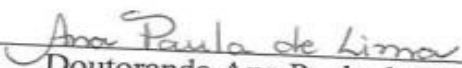
**AVALIAÇÃO DE NANOTUBOS DE CARBONO DE PAREDES MÚLTIPLAS E  
ALUMINA PARA DETERMINAÇÃO DE 4-CLOROANILINA**


Trabalho de conclusão de curso apresentado para o curso de graduação do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para a obtenção do título de bacharel em Química Industrial.

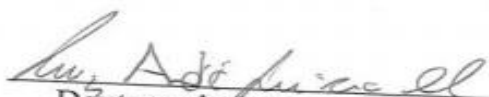
Uberlândia, 10 de Julho de 2019.

Banca examinadora:

  
Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz  
(Orientador - UFU)

  
Doutoranda Ana Paula de Lima  
(Coorientadora - UFU)

  
Prof. Dr. João Flávio da Silveira Petrucci  
(Examinador - UFU)

  
Doutorando Luiz André Juvêncio Silva  
(Examinador - UFU)

## RESUMO

O presente trabalho apresenta os estudos sobre a determinação de 4-cloroanilina (4-CLA) usando a detecção amperométrica acoplada a um sistema de análise por injeção em batelada (BIA), avaliando o desenvolvimento de sensores eletroquímicos baseados em nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT) de diferentes tamanhos (LD-MWCNT, 110-170 nm x 5-9  $\mu$ m e SD-MWCNT, 6-9 nm x 5  $\mu$ m) sendo estes funcionalizados e não funcionalizados e também a alumina como modificante. Foi realizada comparações entre o eletrodo não modificado e modificado, sendo o eletrodo de carbono vítreo (GCE) utilizado em todos os estudos. Estudos voltamétricos e amperométricos da 4-CLA mostraram que o eletrodo modificado com os diferentes nanotubos e com alumina apresentou propriedades eletrocatalíticas, além de apresentarem vantagens, como sensibilidades significativas levando ao aumento de corrente, diminuição do potencial de oxidação da 4-CLA, redução dos efeitos de adsorção do analito ao eletrodo, ampliação das faixas lineares de trabalho e redução dos limites de detecção em comparação ao eletrodo não modificado.

**Palavras-chave:** 4-cloroanilina, Nanotubos de Carbono, Alumina, Análise por Injeção em Batelada.

## ABSTRACT

The present work presents the studies on the determination of 4-chloroaniline (4-CLA) using amperometric detection coupled to a batch injection analysis system (BIA), evaluating the development of electrochemical sensors based on multiple-walled carbon nanotubes (MWCNT) of different sizes (LD-MWCNT, 110-170 nm x 5-9  $\mu$ m and SD-MWCNT, 6-9 nm x 5  $\mu$ m) being functionalized and non-functionalized and alumina as modifier. Comparisons were made between the unmodified and modified electrode, with the vitreous carbon electrode (GCE) used in all studies. The electrochemical and electrochemical properties of the electrochemical and electrochemical properties of the 4-CLA electrochemical and electrochemical electrochemical properties of the electrochemical and electrochemical properties of 4-CLA of the effects of adsorption of the analyte to the electrode, expansion of the linear working ranges and reduction of detection limits in comparison to the unmodified electrode.

**Keywords:** 4-chloroaniline, Carbon Nanotubes, Alumina, Batch Injection Analysis.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Fórmula estrutural da 4-cloroanilina. ....	11
<b>Figura 2.</b> Representação esquemática da estrutura de um MWCNT. [3] .....	14
<b>Figura 3.</b> Representação esquemática de um experimento de voltametria cíclica. $E_i$ : potencial inicial; $E_f$ : potencial final; $E_s$ : Potencial de inversão; WE: eletrodo de trabalho; RE: eletrodo de referência; CE: eletrodo auxiliar. [3].....	17
<b>Figura 4.</b> Perturbação aplicada e (B) resposta de corrente para um experimento de degrau único de potencial. [3].....	18
<b>Figura 5.</b> Diagrama esquemático de uma célula BIA. [3].....	19
<b>Figura 6.</b> Imagem ilustrativa do sistema BIA empregada neste trabalho. [37] .....	23
<b>Figura 7.</b> Voltamogramas cíclicos de $1 \text{ mmol L}^{-1}$ de 4-CLA em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão BR (pH 2,0). (A) Em GCE limpo, 1º ciclo (—) e 2º ciclo (—) e GCE com alumina, 1º ciclo (—) e 2º ciclo (—). (B) Em LD não funcionalizado, 1º ciclo (—) e 2º ciclo (—) e LD funcionalizado, 1º ciclo (—) e 2º ciclo (—). (C) Em SD não funcionalizado, 1º ciclo (—) e 2º ciclo (—) e SD funcionalizado, 1º ciclo (—) e 2º ciclo (—). Scan rate: $50 \text{ mV s}^{-1}$ ....	244
<b>Figura 8.</b> Voltamogramas hidrodinâmicos obtidos através das representações gráficas dos valores médios das correntes de pico de $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de 4-CLA em função dos potenciais aplicados para (A) GCE limpo (■) e com alumina (●), (B) GCE/LD não funcionalizado (■) e GCE/LD funcionalizado (●) e (C) GCE/SD não funcionalizado (■) e GCE/SD funcionalizado (●). Eletrólito: $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de solução tampão BR (pH 2,0), volume de injeção de $100 \text{ } \mu\text{L}$ e velocidade de injeção de $277,0 \text{ } \mu\text{L s}^{-1}$ .....	27
<b>Figura 9.</b> Estudo do volume injetado no sistema BIA utilizando (A) GCE limpo (■) e com alumina (●), (B) GCE/LD não funcionalizado (■) e GCE/LD funcionalizado (●) e (C) GCE/SD não funcionalizado (■) e GCE/SD funcionalizado (●). Injeções de 10, 30, 50, 70, 100, 150 e $200 \text{ } \mu\text{L}$ de solução padrão de $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de 4-CLA em solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de solução tampão BR (pH 2,0), potencial de trabalho de 1,3 V e velocidade de injeção de $277,0 \text{ } \mu\text{L s}^{-1}$ . ....	29
<b>Figura 10.</b> Estudo do volume injetado no sistema BIA utilizando (A) GCE limpo (■) e com alumina (●), (B) GCE/LD não funcionalizado (■) e GCE/LD funcionalizado (●) e (C) GCE/SD não funcionalizado (■) e GCE/SD funcionalizado (●), empregando as velocidades de injeção de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e $8 \text{ } \mu\text{L s}^{-1}$ para injeções em triplicata da solução padrão	

contendo  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  de 4-CLA em solução de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de solução tampão BR (pH 2,0), potencial de trabalho de 1,3 V..... 31

**Figura 11.** Repetibilidade no sistema BIA para GCE limpo e modificado com alumina, LD-MWCNT funcionalizado, LD-MWCNT não funcionalizado, SD-MWCNT funcionalizado e SD-MWCNT não funcionalizado. Com adição de  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  de 4-CLA em solução de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de solução tampão BR (pH 2,0). Potencial de trabalho de 1,3 V, volume injetado  $100 \mu\text{L}$  e velocidade de injeção de  $277 \mu\text{L s}^{-1}$ . ..... 32

**Figura 12.** Respostas amperométricas obtidos em BIA, utilizando (A) GCE limpo, (B) GCE/alumina, (C) GCE/LD funcionalizado, (D) GCE/LD não funcionalizado, (E) GCE/SD funcionalizado e (F) GCE/SD não funcionalizado, para injeções em triplicata de soluções padrão de 0,3, 0,5, 1, 3, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 350, 500, 700, 900 e  $1000 \mu\text{mol L}^{-1}$  em  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de solução tampão BR (pH 2,0). Potencial: 1,3 V, volume injetado:  $100 \mu\text{L}$  e velocidade de injeção:  $277 \mu\text{L s}^{-1}$ . ..... 34

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Reagentes utilizados no desenvolvimento do trabalho. ....	21
<b>Tabela 2.</b> Dados obtidos pelo estudo da repetibilidade em GCE limpo e GCE modificado com alumina, LD-MWCNT e SD-MWCNT funcionalizados e não funcionalizados. ....	34
<b>Tabela 3.</b> Resultados das análises das faixas lineares para 4-CLA no sistema BIA, obtidos em GCE limpo e modificado com alumina, LD-MWCNT e SD-MWCNT funcionalizados e não funcionalizados. ....	38



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**4-CLA:** 4-Cloroanilina;

**DMF:** Dimetilformamida;

**BIA:** *Batch injection analysis*- Análise por injeção em batelada;

**DPR:** Desvio padrão relativo;

**FL:** Faixa linear;

**CE-** *Counter electrode*- Eletrodo auxiliar

**RE-** *Reference electrode*- Eletrodo de referência

**WE-** *Working electrode*- Eletrodo de trabalho

**CHX-** Clorexidina

**CME-** *Chemically modified electrode*- Eletrodo quimicamente modificado

**CNT-** *Carbon nanotubes*- Nanotubos de carbono

**CV-** *Cyclic voltammetry*- Voltametria cíclica

**LD-MWCNT-** *Larger diameter- multi walled carbono nanotubes*- nanotubos de carbono de paredes múltiplas- maior diâmetro

**SD- MWCNT-** *Smaller diameter- multi walled carbono nanotubes*- nanotubos de carbono de paredes múltiplas- menor diâmetro

**Tampão BR-** Tampão Britton-Robinson

**QL-** Quantitation limit - Limite de quantificação

**DL** - Detection limit - Limite de detecção

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<i>1.1 Analito Estudado .....</i>	<i>11</i>
<i>1.2 Eletrodos Quimicamente Modificados.....</i>	<i>12</i>
<i>1.2.1 Eletrodos Modificados com Nanotubos de Carbono .....</i>	<i>13</i>
<i>1.2.2 Eletrodo Modificado com Alumina .....</i>	<i>16</i>
<i>1.3 Técnicas Eletroanalíticas .....</i>	<i>16</i>
<i>1.3.1 Voltametria Cíclica.....</i>	<i>17</i>
<i>1.3.2 Amperometria.....</i>	<i>18</i>
<i>1.4 Sistema de Análise por injeção em Batelada .....</i>	<i>19</i>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>20</b>
<i>2.1 Objetivos Gerais .....</i>	<i>20</i>
<i>2.2 Objetivos Específicos .....</i>	<i>20</i>
<b>3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL .....</b>	<b>21</b>
<i>3.1 Reagentes e Soluções.....</i>	<i>21</i>
<i>3.2 Eletrodos de Trabalho, Referência e Auxiliar .....</i>	<i>22</i>
<i>3.3 Preparações do Eletrodo .....</i>	<i>22</i>
<i>3.4 Instrumentação .....</i>	<i>23</i>
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>24</b>
<i>4.1. Voltamogramas Cíclicos Comparativos na Presença de 4-CLA .....</i>	<i>24</i>
<i>4.2. Otimização dos Parâmetros do sistema BIA .....</i>	<i>27</i>
<i>4.2.1. Hidrodinâmico e Estudo dos Potenciais .....</i>	<i>27</i>
<i>4.2.2. Estudo do Volume Injetado .....</i>	<i>29</i>
<i>4.2.3. Estudo da Velocidade de Injeção.....</i>	<i>30</i>
<i>4.3. Estabilidade das Modificações Realizadas em GCE: Repetibilidade .....</i>	<i>32</i>
<i>4.4. Estudo da Faixa Linear de Trabalho .....</i>	<i>34</i>
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>40</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>40</b>

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Analito Estudado

A 4-cloroanilina (4-CLA) é uma amina aromática sólida cristalina de cor levemente amarela e um leve odor aromático. Possui a fórmula química  $C_6H_5ClN$ , e sua massa molecular relativa é de 127,57 g/mol [1]. Sua fórmula estrutural é apresentada na figura 1.

**Figura 1.** Fórmula estrutural da 4-cloroanilina.



Fonte: ZONG, 2012 [35].

A 4-CLA é um dos principais produtos de degradação da clorexidina (CHX) após hidrólise em condições ácidas ou básicas [2]. A CHX e seus sais são utilizados como agentes antibacterianos em produtos farmacêuticos de uso pessoal, como soluções para lentes de contato, enxaguantes bucais, pastas de dentes, e como desinfetantes, para limpeza de superfícies, equipamentos e roupas de hospitais [3]. A determinação de 4-CLA em produtos que contenham a CHX é de fundamental importância, pois devido a sua alta toxicidade é necessário acompanhar a segurança de tais produtos farmacêuticos. Além da sua toxicidade, alguns estudos toxicológicos apontam a carcinogenicidade e a imunotoxicidade da 4-CLA [4]. A farmacopeia dos Estados Unidos estabelece um limite de 3 ppm ( $23,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) de 4-CLA em soluções de CHX [5]. A ANVISA determina um parâmetro máximo de 0,03 g/kg (30 ppm) deste composto ativo, em relação à sua toxicidade [6]. Devido a sua importância toxicológica, a 4-CLA e outras aminas substituídas foram incluídas na lista de poluentes industriais, pela comunidade Europeia que estabelece um monitoramento em águas ambientais [4].

A 4-CLA é utilizada em indústrias têxteis, de corantes e borrachas [3]. Em uma pesquisa realizada, foi observado que a 4-CLA é também um produto de degradação de pesticidas do grupo fenil uréia e fenil carbamatos [8].

Alguns estudos foram realizados para determinação de 4-CLA, porém o método mais utilizado é o de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), após uma ou mais etapas de

pré-concentração em coluna, por diferentes métodos analíticos em água. Vicente e Toledo (2003) avaliaram a presença de 4-CLA em carcaças de frango tratadas com digluconato de CHX em função da cocção em forno a gás convencional a 200° C, cozimento em panela de pressão por uma hora e fritura em óleo de girassol a 180° C por 15 minutos. As análises e identificação foram realizadas por meio da cromatografia gasosa e de espectrometria de massas. Os autores observaram que a fritura desencadeia a maior formação de 4-CLA [4]. Balugera e coautores utilizaram cromatografia líquida com detecção amperométrica para 4-CLA e outros 2 compostos em metabólitos de mel realizando previamente extração das substâncias. Foi utilizado GCE como eletrodo de trabalho operando em potencial de 1.10 V vs Ag/AgCl [11].

Novas ferramentas analíticas são essenciais para o monitoramento em tempo real de processos industriais e para prevenção da formação de substâncias tóxicas. As obtenções de dados analíticos com essas ferramentas possuem o intuito de melhorar o sistema de produção e em paralelo minimizar o impacto ambiental. No desenvolvimento de um método analítico, algumas características atrativas são desejáveis como, por exemplo, fácil operação, menor tempo de análise, mantendo adequada sensibilidade, seletividade, robustez, precisão e baixo custo. Neste sentido as análises por injeção em batelada (BIA) têm sido bastante estudadas para satisfazer estas condições, que são bastante viáveis para muitos laboratórios de pesquisa e empresas de pequeno porte [3].

Neste trabalho serão apresentados alguns aspectos teóricos e práticos sobre a análise por injeção em batelada (BIA) utilizando as técnicas eletroanalíticas amperometria e voltametria cíclica, para detecção do analito estudado, a 4-CLA, fazendo-se o uso de eletrodos modificados com nanotubos de carbono e alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ).

## ***1.2 Eletrodos Quimicamente Modificados***

O termo eletrodo quimicamente modificado (CME) foi introduzido na eletroquímica por Murray e colaboradores [15] em 1975 para designar eletrodos com espécies quimicamente ativas, deliberadamente imobilizadas em suas superfícies, com o objetivo de pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo/solução. A modificação da superfície do eletrodo consiste em uma forma de impor e controlar sua reatividade e/ou seletividade, possibilitando o desenvolvimento de eletrodos para vários propósitos e aplicações [16].

As características mais importantes na elaboração de sensores são a sensibilidade, seletividade, estabilidade, precisão, resposta rápida, facilidade de uso, custo baixo e robustez.

A crescente demanda das áreas da medicina, da indústria e do meio ambiente tem levado ao desenvolvimento dos mais variados sensores. Os eletrodos sólidos são os mais indicados para fins comerciais [17].

No desenvolvimento de um CME, é preciso considerar alguns fatores, tais como, o eletrodo base, o modificador químico e as espécies que devem ser determinadas. A escolha do material do eletrodo base deve possuir características eletroquímicas importantes e também ser adequado para o método de imobilização desejado. Entre os materiais convencionais mais utilizados estão o ouro, platina, mercúrio, carbono vítreo, pasta de carbono, fibras de carbono e nanotubos de carbono (CNT) [18].

Os métodos mais importantes para desenvolver a modificação do eletrodo base são: adsorção direta do modificador, formação de compósitos, formação por ligação covalente e recobrimento por membranas poliméricas. A metodologia por adsorção é muito empregada, devido principalmente à sua simplicidade e eficiência em muitos casos. Uma das formas de preparo por adsorção consiste na dissolução do agente modificador em um solvente adequado seguida da incorporação simples e rápida do composto no eletrodo base [19]. Atualmente, os eletrodos modificados com CNTs, nanomaterial de carbono que apresenta morfologia tubular com dimensões nanométricas, têm se destacado.

### ***1.2.1 Eletrodos Modificados com Nanotubos de Carbono***

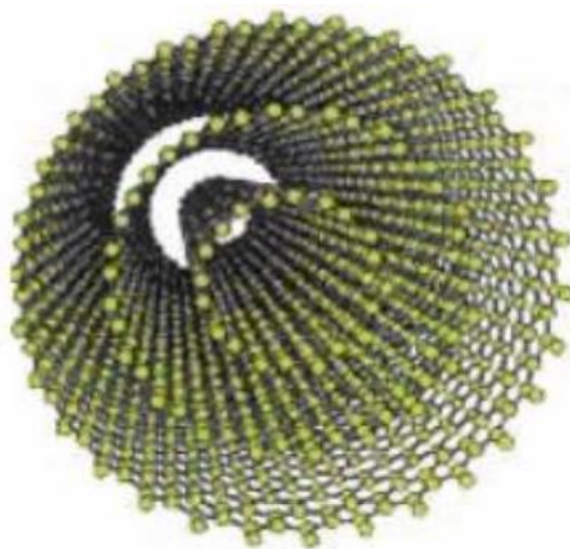
Os nanotubos de carbono de paredes múltiplas foram sintetizados pela primeira vez por Iijima no ano de 1991 [20]. Após esta descoberta, o interesse pela aplicação dos CNTs em diversas áreas gerou uma grande procura por novas formas para a síntese destes devido as suas propriedades diferenciadas com relação aos demais materiais com maiores dimensões, como propriedades do tipo magnéticas, óptica, alto ponto de fusão, calor específico e reatividade da superfície. A utilização de CNT para o desenvolvimento de sensores na área de eletroanálise é devido a duas de suas principais propriedades: a alta área superficial, o que permite uma ampliação no sinal analítico, e a segunda propriedade pronunciada é o seu elevado poder catalítico. A propriedade eletrocatalítica está diretamente relacionada ao transporte e transferência eletrônica presente nos CNTs [22]. Assim, devido as suas principais características os CNTs são um excelente material para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos.

Os CNTs podem ser classificados em dois tipos, os *Single Walled Carbon Nanotubes* (SWCNTs) ou em português Nanotubos de Carbono de Paredes simples e os *Multi Walled*

*Carbon Nanotubes* (MWCNTs) ou em português Nanotubos de Carbono de Paredes Múltiplas. Os SWCNTs são estruturalmente formados por um único tubo de carbono e os MWCNTs são formados por vários cilindros de carbono concêntricos e com espaço entre as camadas de 0,3-0,4 nm [21].

As propriedades dos CNT são determinadas pelo tamanho e pela morfologia, obtendo um interessante equilíbrio em suas propriedades físico-químicas. São formados por arranjos hexagonais de carbono e são alótropos dos mesmos, consistindo em camadas de grafeno enrolados (uma folha de grafeno consiste em um arranjo bidimensional de átomos de carbono com hibridização  $sp^2$ , ligados em hexágonos, cujo empilhamento resulta na estrutura do grafite) em formatos cilíndricos, com diâmetro na ordem de nanômetros e comprimento variando de nanômetros e podendo chegar até a ordem de micrômetros [3].

**Figura 2.** Representação esquemática da estrutura de um MWCNT.



Fonte: MONTES, 2015 [3].

Uma das primeiras pesquisas sobre CNT no desenvolvimento de sensores foi baseada na modificação do eletrodo de carbono vítreo (GCE) com CNT dispersos em Nafion para oxidação eletroquímica de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH), foi um trabalho de destaque realizado por Wang e colaboradores [23].

O GCE, sigla derivada do inglês *glassy carbon electrode*, possui propriedades mecânicas e elétricas favoráveis, ampla janela de potencial, inércia química e desempenho reprodutível, e é um material muito utilizado nos estudos eletroquímicos e eletroanalíticos. O GCE pode ser polido facilmente com partículas de alumina, é compatível com a maioria das

soluções e eletrólitos utilizados bem como sua superfície pode ser modificada adequadamente seguindo diversos caminhos, como por exemplo, através da adsorção química do agente modificador [24].

Métodos de dispersão são realizados através de ultrassons que são fundamentais para dispersão de materiais em escala nanométrica no líquido, devido às grandes relações entre área superficial e volume bem como a escala de ação das ondas ultrassônicas [25]. Um dos grandes desafios para obtenção destes dispositivos com CNTs é a insolubilidade deles em todos os solventes, por conta disso os problemas podem ser resolvidos pelo uso de ultrassons durante o processo de dispersão de CNT. Com uma boa dispersão do CNT obtém-se uma condutividade elétrica mais elevada [3]. Alguns estudos realizados mostram a dispersão em solventes orgânicos apróticos polares, tais como dimetilformamida (DMF), o qual forma uma dispersão cinematicamente estável [26].

O processo de funcionalização dos nanotubos de carbono é um tratamento ácido que consiste na utilização de ácidos concentrados ( $\text{HNO}_3$  e  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) sob aquecimento ou sonicação, levando a adição de grupos funcionais (grupos carboxílicos, cetonas e álcoois) na superfície do nanotubo, com o objetivo principal de aumentar a solubilidade do CNT e melhorar as dispersões. No entanto, devido à baixa solubilidade dos CNTs, sua manipulação é dificultada, sendo assim, sua funcionalização é comumente realizada antes de sua dispersão em solventes [36].

Na literatura é possível encontrar alguns trabalhos que estudaram e mostraram que MWCNTs com diferentes diâmetros geralmente apresentam diferentes propriedades físico-químicas [3]. Neste presente trabalho, o uso de um eletrodo modificado MWCNT associado à análise por injeção em batelada é demonstrado para a determinação amperométrica e voltamétrica de 4-CLA. Dois tamanhos diferentes de MWCNT (SD com menor diâmetro e LD com maior diâmetro) foram avaliados e comparados com o GCE não modificado e modificado com alumina para detecção de 4-CLA.

### ***1.2.2 Eletrodo Modificado com Alumina***

O óxido de alumínio é um composto químico de alumínio e oxigênio, cuja fórmula molecular é  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , sendo conhecido por alumina. A forma cristalina mais comum da alumina ( $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ ) é onde os íons oxigênio formam uma estrutura hexagonal compacta com os íons alumínio preenchendo os interstícios octaédricos. A fase  $\alpha$ , a mais estável da alumina, tem uma variedade muito grande de aplicações, principalmente no que concerne às suas propriedades mecânicas, térmicas e elétricas [28].

Há muito tempo se destaca a importância da limpeza e do polimento das superfícies de eletrodo de carbono com abrasivos de partículas pequenas, como alumina e de remover completamente estas partículas da superfície através de limpeza ultrassônica [27]. Foi demonstrado que a catálise aparente da oxidação do catecol a o-benzoquinona em meios ácidos foi causada pelas partículas de alumina imobilizadas em uma superfície de GCE. Esses trabalhos retratam uma possível contaminação do GCE com a alumina, devido à prática comum de limpeza do eletrodo utilizando o polimento com alumina, alterando a eletroquímica de diferentes moléculas [27,29].

Em um trabalho recente, foi observado o efeito da morfologia e estrutura das nanopartículas de alumina usadas como suspensão para modificação de eletrodos por polimento, na eletroquímica de compostos fenólicos, incluindo catecol, dopamina e butil-hidroquinona (TBHQ). Este artigo demonstrou que a imobilização abrasiva de partículas de alumina não apenas em um GCE, mas também em um eletrodo de ouro, proporciona uma atividade catalítica semelhante em relação à oxidação de compostos fenólicos. Os resultados demonstraram que partículas de  $\text{Al}_2\text{O}_3$  comercialmente disponíveis para o polimento de eletrodos podem ser usadas para desenvolver sensores eletroquímicos altamente sensíveis, reprodutíveis e estáveis, mas também indicam que o polimento de eletrodos pode gerar respostas eletroquímicas melhoradas atribuídas a “superfícies limpas” [30].

### ***1.3 Técnicas Eletroanalíticas***

Os métodos eletroquímicos compreendem um conjunto de técnicas baseadas nas propriedades elétricas de uma solução de analito quando o mesmo faz parte de uma célula eletroquímica. Aplicados à química analítica são chamados de técnicas eletroanalíticas e são capazes de fornecer: grande sensibilidade e baixos limites de detecção (LD); seletividade das determinações resultantes do processo redução e oxidação das espécies analíticas de interesse,



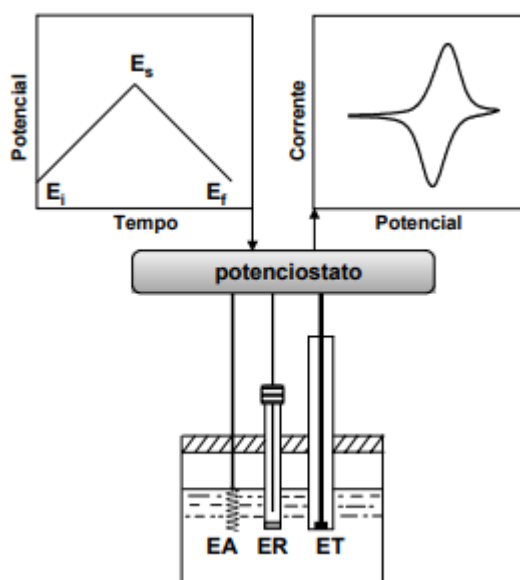
em função do potencial e modos de aquisição de sinal que proporcionam um ambiente com baixo sinal de fundo [31].

### 1.3.1 Voltametria Cíclica

A voltametria é um método eletroquímico que se baseia num conjunto de técnicas nas quais se observa uma relação entre o potencial e a corrente durante o processo eletroquímico.

A VC (Voltametria cíclica) é uma técnica eletroanalítica importante e amplamente aplicada. Embora a VC não seja empregada com frequência na análise quantitativa, ela encontra ampla aplicabilidade no estudo de reações redox, na detecção de intermediários de reação e na observação e no acompanhamento de reações envolvendo produtos formados nos eletrodos. Na VC, em primeiro lugar a varredura de potencial é feita em uma direção e, em seguida, na outra, enquanto a corrente é medida. Um experimento envolvendo VC pode empregar um ciclo inteiro, um ciclo parcial ou ainda vários ciclos. Nesta técnica, a intensidade da corrente que flui através de um eletrodo é medida em função do potencial aplicado ao eletrodo de trabalho [31].

**Figura 3.** Representação esquemática de um experimento de voltametria cíclica.  $E_i$ : potencial inicial;  $E_f$ : potencial final;  $E_s$ : Potencial de inversão; ET: eletrodo de trabalho; ER: eletrodo de referência; EA: eletrodo auxiliar.



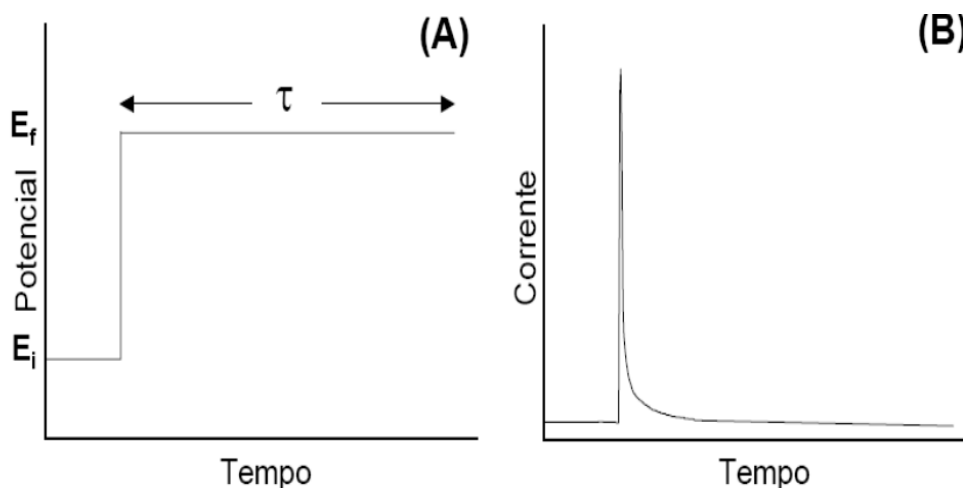
Fonte: MONTES, 2015 [3].

Basicamente, o método consiste em aplicar ao eletrodo de trabalho um potencial que varia continuamente com o tempo, levando à ocorrência de reações de oxidação e/ou de redução de espécies eletroativas na solução (reações faradaicas) e à produção de uma corrente capacitiva, resultante do carregamento da dupla camada elétrica. A corrente necessária para sustentar a reação provém do CE. A função do RE não pode sofrer alterações resultantes do fluxo de correntes significativas através dele [32].

### 1.3.2 Amperometria

A amperometria é uma técnica que pode ser empregada para complementar a VC na análise de mecanismos eletroquímicos. É uma técnica bastante utilizada para estudar reações de eletrodo e suas velocidades. Essa técnica se baseia na aplicação de um único degrau de potencial (Figura 4A), produzindo-se uma corrente que decai rapidamente com o tempo (Figura 4B).

**Figura 4.** Perturbação aplicada e (B) resposta de corrente para um experimento de degrau único de potencial.



Fonte: MONTES, 2015 [3].

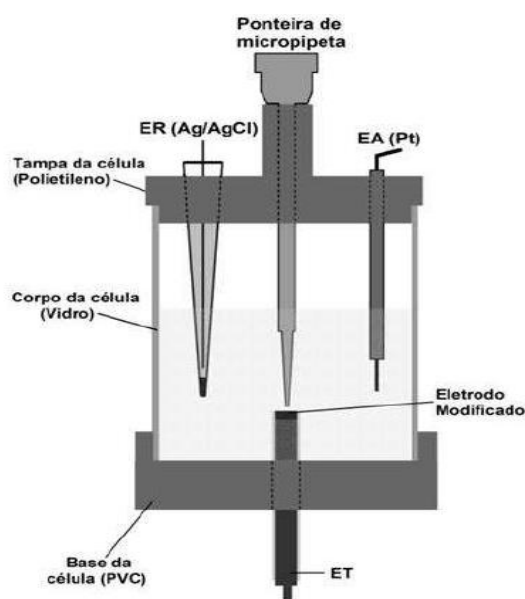
Quando associada a métodos de análise com alta velocidade, como BIA, esta técnica torna-se a mais atraente em eletroanalítica. Sendo assim, as medidas são baseadas em picos de corrente em função do tempo, obtidas pela aplicação de um potencial constante ao WE. A diferença entre os sinais (corrente) produzidos pelo analito e pelo eletrólito suporte é a medida de interesse, e deve ser proporcional à concentração do analito. A corrente causada pelo

eletrólito suporte apresenta valor muito baixo, provindo de pequenas quantidades de impurezas. Para este tipo de trabalho, estudos prévios envolvendo técnicas de varredura de potencial são necessários a fim de selecionar o potencial de oxidação ou redução adequado à análise. Uma grande vantagem da amperometria por ser uma técnica conduzida a potencial constante, a corrente residual obtida apresenta valores muito baixos, isso confere à técnica maior sensibilidade, em relação à voltametria baseada na varredura de potenciais [3, 32].

#### 1.4 Sistema de Análise por injeção em Batelada

O sistema de análise por injeção em batelada (BIA, do inglês "*Batch Injection Analysis*") foi introduzido na década de 90 por Wang e Taha, e é uma técnica considerada alternativa na realização de testes rápidos, especialmente quando associada à detecção amperométrica. Nesta técnica utiliza-se uma célula eletroquímica com 3 eletrodos imersos em eletrólito suporte [33].

**Figura 5.** Diagrama esquemático de uma célula BIA.



Fonte: MONTES, 2015 [3].

O WE é invertido de sua posição atual, sendo fixado através de um orifício na base da célula. A injeção de pequenos volumes do analito (normalmente 100µL) é feita diretamente na superfície do WE (configuração "wall-jet") com o auxílio de uma micropipeta acomodada

na tampa da célula. A ponteira da micropipeta é fixada tipicamente a uma distância de 2 mm do WE. O sistema BIA possui características como: alta velocidade de análise, sensibilidade e reprodutibilidade [33].

Métodos analíticos utilizando detectores amperométricos acoplados a sistemas BIA apresentam características como simplicidade, rapidez, eficiência, baixo custo e baixo consumo de reagentes, que são de extremo interesse em laboratórios de controle de qualidade pelo fato de evitar o desperdício de reagentes e diminuir a quantidade de efluentes [34].

## **2. OBJETIVOS**

### ***2.1 Objetivos Gerais***

O objetivo deste trabalho foi estudar o comportamento eletroquímico da 4-CLA frente às diferentes modificações realizadas na superfície do eletrodo de carbono vítreo. Diferentes nanotubos de carbono LD e SD não funcionalizados e funcionalizados e também a alumina foram utilizados como modificantes e finalmente comparados com o eletrodo de carbono vítreo sem nenhuma modificação. O uso das diferentes modificações foi associado à análise por injeção em batelada para a determinação amperométrica de 4-CLA. Os estudos por voltametria cíclica também foram realizados para as diferentes modificações, com o intuito de avaliar o perfil eletroquímico da 4-CLA.

### ***2.2 Objetivos Específicos***

- Empregar a modificação do GCE através de diferentes dispersões de nanotubos de carbono funcionalizados e não funcionalizados, sendo um com menor diâmetro (SD-MWCNT) e outro com maior diâmetro (LD-MWCNT),
- Realizar a modificação do eletrodo, através do polimento do GCE utilizando partículas de alumina;
- Investigar o perfil voltamétrico da 4-CLA nos diferentes eletrodos (GCE limpo, com alumina, SD-MWCNT e LD-MWCNT funcionalizados e não funcionalizados);
- Analisar o estudo do sistema BIA com detecção amperométrica para a determinação da 4-CLA empregando eletrodo modificado com CNTs e alumina;

- Realizar o estudo comparativo do GCE modificado e não modificado, através das otimizações dos parâmetros do sistema BIA e do estudo da faixa linear de trabalho da 4-CLA nos diferentes CNTs e alumina.

### 3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

#### 3.1 Reagentes e Soluções

As soluções foram preparadas utilizando água deionizada de alta pureza do sistema de purificação Milli-Q Plus da Millipore (resistividade > 18 MΩ cm). Os reagentes utilizados eram todos de grau analítico. Na Tabela 1 encontram-se os reagentes utilizados, a procedência e a pureza.

**Tabela 1.** Reagentes utilizados no desenvolvimento do trabalho.

REAGENTES	PROCEDÊNCIA	PUREZA
4-Cloroanilina	Sigma-Aldrich	PA
Dimetilformamida	Vetec	PA
Ácido acético glacial	Synth	99,70%
Ácido bórico	QM	PA
Ácido fosfórico	Reagen	85%
Hidróxido de Sódio	Dinâmica	PA
SD-MWCNT (diam.= 6-9 nm e comp.= 5um)	Sigma-Aldrich	> 95%
LD-MWCNT (diam).= 110-170 nm e comp.= 5-9µm)	Sigma-Aldrich	> 90%
Alumina (0.3 µm) – α-Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Buehler	PA

Para o preparo da solução de 4-CLA foi utilizada a solução tampão de Britton-Robinson (BR) composta por uma mistura de ácido acético, ácido fosfórico e ácido bórico, sendo o pH ajustado em 2, com hidróxido de sódio. O padrão sólido de 4-CLA foi pesado (massa= 0,01275 g) e dissolvido na solução do eletrólito tampão BR pH=2, formando uma solução estoque com concentração de 10 mmol L<sup>-1</sup>. Na etapa seguinte, esta solução foi diluída no eletrólito suporte (tampão BR pH=2) para as análises quantitativas, de acordo com as concentrações de interesse.

### ***3.2 Eletrodos de Trabalho, Referência e Auxiliar***

O eletrodo de trabalho (WE) que foi utilizado em todas as medidas foi o GCE não modificado e modificado com alumina, SD-MWCNT e LD-MWCNT funcionalizados e não funcionalizados. Este GCE apresenta diâmetro de 1,6 mm e foi adquirido da empresa BASi (WEST Lafayette, EUA). [3]

O eletrodo de referência (RE) utilizado era composto por Ag/AgCl/KCl 3 mol L<sup>-1</sup> e foi construído no próprio laboratório, através de um procedimento simples e de baixo custo [40].

O eletrodo auxiliar (CE) era composto por um fio de platina, de aproximadamente 3 cm, inserido em uma ponteira de micropipeta.

### ***3.3 Preparações do Eletrodo***

Na primeira etapa foi realizada a limpeza e condicionamento da superfície do GCE ( $\Phi = 1,6$  mm). A limpeza consistiu em polimento do eletrodo em suspensão de alumina 0,3  $\mu$ m sobre uma almofada de feltro e depois lavado com água deionizada e colocado em um banho de ultrassom com uma mistura de etanol e água deionizada (50%) por cerca de 10 minutos, respectivamente, e posteriormente seco com pano liso.

Para a modificação da superfície do eletrodo foi utilizada uma massa de 2 mg de SD-MWCNT e LD-MWCNT funcionalizados e não funcionalizados em 2 mL do dispersante DMF. Cada dispersão foi preparada separadamente e dispersadas em uma sonda ultrassônica (30% de amplitude) por 15 minutos. Em seguida, 10  $\mu$ L das suspensões foram colocadas sobre a superfície do GCE e o solvente foi evaporado por exposição a 60° C durante 30 minutos, os filmes resultantes eram claramente visíveis a olho nu.

A modificação da superfície com partículas de alumina foi obtida após o polimento abrasivo de cada eletrodo de trabalho em uma almofada de polimento de feltro ( $\Phi = 2$  cm de diâmetro) contendo suspensão de alumina (20 mg mL<sup>-1</sup>) por 10 s. A superfície do eletrodo foi polida em um movimento circular, mantendo o eletrodo voltado para o polidor. O eletrodo modificado foi mantido com a suspensão em sua superfície por 30 segundos e após foi enxaguado com água deionizada. Antes de ser realizada a modificação com alumina o eletrodo foi limpo somente em um feltro, na ausência de alumina e colocado em banho de ultrassom por 10 min, para sua limpeza [36].

Para as medições usando GCE limpo, a limpeza foi feita utilizando um feltro de polimento limpo, sem alumina, e em seguida colocado em um banho de ultrassom por 15 min.

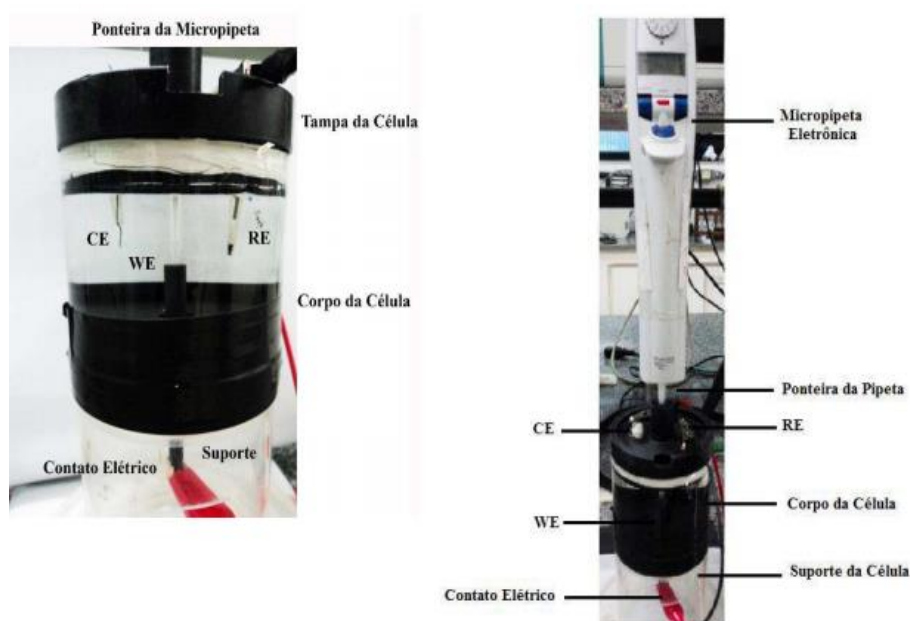
Antes de todas as análises foram realizadas voltametrias cíclicas para a ativação do eletrodo em eletrólito. Geralmente, 5 ciclos eram suficientes para obter varreduras reprodutíveis.

### 3.4 Instrumentação

As medidas eletroquímicas foram todas realizadas utilizando um  $\mu$ -Autolab Tipo III (Eco Chemie, Utrecht, Holanda), controlado por software Nova 1.11. Uma célula eletroquímica do tipo “wall-jet” com os três eletrodos (trabalho, referência e auxiliar) foi empregada no estudo do sistema BIA.

Todas as análises utilizando o sistema BIA foram feitas em uma célula construída no próprio laboratório. Uma tampa superior de polietileno e uma tampa inferior de PVC foram firmemente instaladas no cilindro de vidro. No topo, a tampa de polietileno continha 3 furos para posicionar os eletrodos auxiliar e de referência, a ponteira da micropipeta (posicionada no centro da tampa). No orifício central na base da célula foi feito colocado o eletrodo de trabalho, inserido na posição “wall-jet” (invertida em relação aos outros eletrodos) e logo abaixo da ponteira da micropipeta. As injeções foram realizadas com uma pipeta eletrônica (Eppendorf Multipette Stream), a qual oferece oito velocidades de injeção diferentes. A extremidade da ponteira da pipeta foi posicionada a 2 mm do WE com o objetivo de obter resultados reprodutíveis.

**Figura 6.** Imagem ilustrativa do sistema BIA empregada neste trabalho.



Fonte: LIMA, 2017 [37].

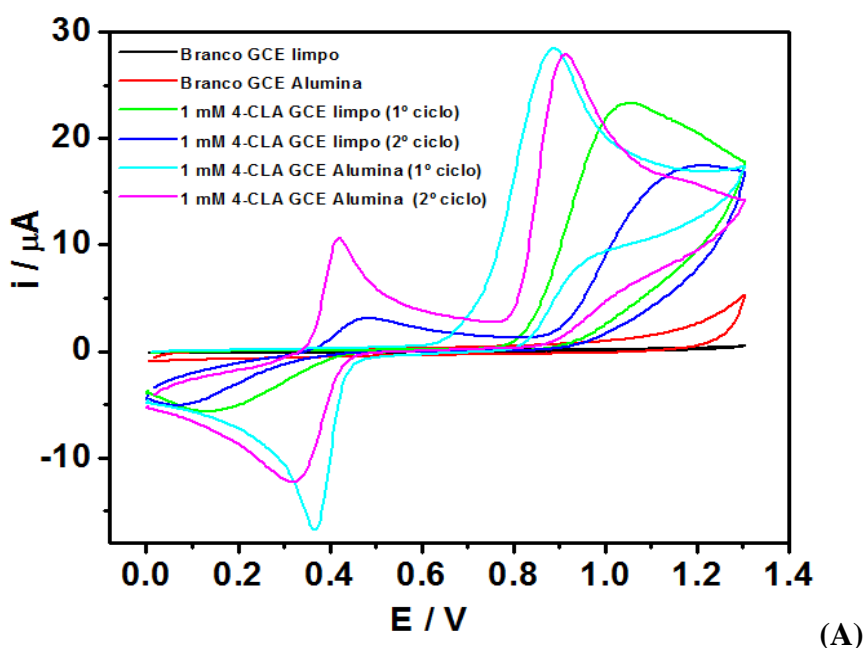
## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1. Voltamogramas Cíclicos Comparativos na Presença de 4-CLA

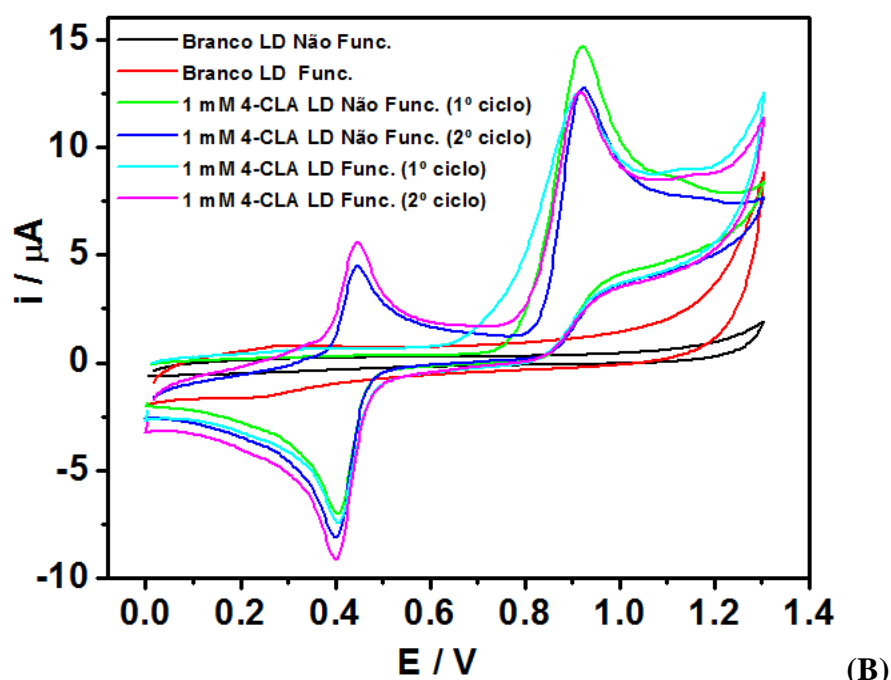
O comportamento eletroquímico da 4-CLA foi inicialmente investigado em GCE não modificado; GCE modificado com alumina; GCE modificado com os nanotubos LD-MWCNT, SD-MWCNT funcionalizados e não funcionalizados, em solução tampão BR 0,1 mol L<sup>-1</sup> pH 2,0. A utilização do tampão BR pH 2, foi baseada em trabalhos realizados anteriormente [2]. Os resultados obtidos demonstraram que a solução tampão BR (Britton-Robinson) em pH 2,0 proporcionou melhor desempenho para a oxidação eletroquímica da 4-CLA, com base na estabilidade e reprodutibilidade dos sinais, por esse motivo, neste trabalho também foi utilizado o tampão BR pH 2.

Os estudos realizados por voltametria cíclica (1ª e 2º ciclos) de 4-CLA em GCE limpo e com alumina, GCE/LD-MWCNT funcionalizado e não funcionalizado, GCE/SD-MWCNT funcionalizado e não funcionalizado são apresentados na figura 7.

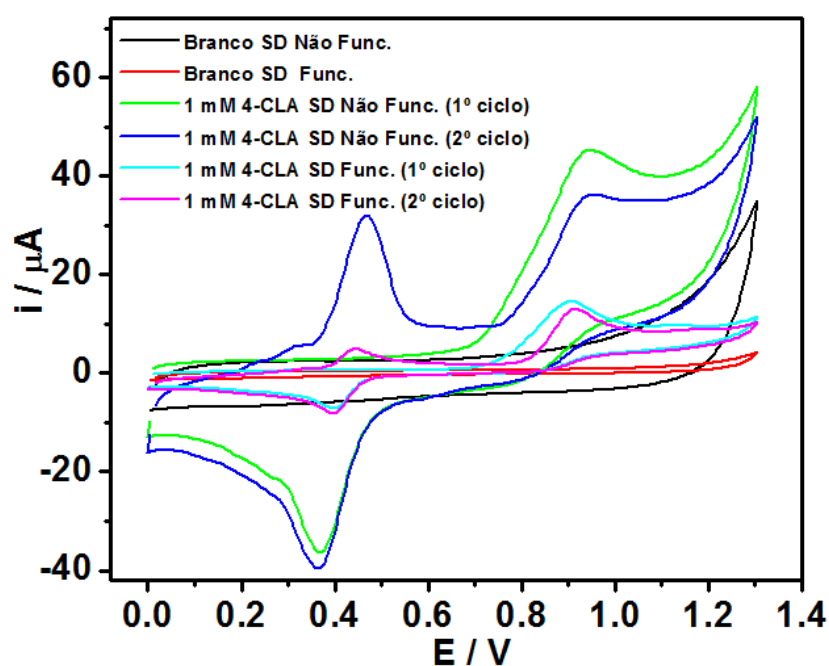
**Figura 7.** Voltamogramas cíclicos de 1 mmol L<sup>-1</sup> de 4-CLA em 0,1 mol L<sup>-1</sup> de tampão BR (pH 2,0). (A) Em GCE limpo, 1º ciclo (—) e 2º ciclo (—) e GCE com alumina, 1º ciclo (—) e 2º ciclo (—). (B) Em LD não funcionalizado, 1º ciclo (—) e 2º ciclo (—) e LD funcionalizado, 1º ciclo (—) e 2º ciclo (—). (C) Em SD não funcionalizado, 1º ciclo (—) e 2º ciclo (—) e SD funcionalizado, 1º ciclo (—) e 2º ciclo (—). Scan rate: 50 mV s<sup>-1</sup>.







(B)



(C)

Fonte: A autora

Para todos os eletrodos foram observados 3 picos na janela de potencial avaliada, sendo dois picos anódicos (oxidação) e um catódico (redução). É importante observar que o primeiro pico anódico (em aproximadamente 0,4 V) só é visível no segundo ciclo, pois ele é formado após a redução do produto oxidado da 4-CLA, ou seja, ocorre a oxidação do que foi anteriormente formado na redução.

Na figura 7A, o primeiro pico de oxidação, a partir do segundo ciclo, foi observado em 0,47 V para o GCE limpo (não modificado), com a oxidação se iniciando em 0,35 V (linha

azul). O segundo pico de oxidação irreversível foi registrado em 1,04 V, iniciando-se em 0,80 V (linha verde). O pico catódico foi adquirido em 0,16 V, com início de redução em 0,42 V.

Já o eletrodo modificado com alumina, como observado em comparação ao eletrodo limpo, mostrou um resultado muito mais satisfatório, pois houve um aumento na corrente, o que indica um aumento na transferência de elétrons na superfície modificada. O primeiro pico de oxidação da alumina, a partir do segundo ciclo, foi observado em 0,41 V, menor potencial quando comparado com o eletrodo limpo, indicando que a modificação com alumina além de ter ocasionado o aumento de corrente, possibilitou a antecipação do potencial de oxidação da 4-CLA.

Para o LD-MWCNT não funcionalizado e funcionalizado observa-se o primeiro pico anódico em 0,44 V, com oxidação se iniciando em 0,35 V (a partir do 2º ciclo). O segundo pico de oxidação irreversível foi registrado em 0,91 V, começando em 0,78 V. O pico catódico foi adquirido em 0,39 V, com início de redução em 0,50 V. Para estes nanotubos de carbono (LD-MWCNT não funcionalizado e funcionalizado) podemos observar que não ocorre diferença significativa nos valores de corrente, fazendo com que suas respostas fiquem similares com o nanotubo não funcionalizado.

Para o SD-MWCNT não funcionalizado e funcionalizado observa-se o primeiro pico anódico em 0,46 V e 0,44 V, respectivamente, com oxidação se iniciando em 0,35 V (a partir do 2º ciclo). O segundo pico de oxidação irreversível foi registrado em 0,94 V e 0,91 V respectivamente, começando em 0,75 V. O pico catódico foi adquirido em 0,35 V e 0,39 respectivamente, com início de redução em 0,50 V. Nesse caso, podemos observar que a utilização do nanotubo não funcionalizado como modificante proporcionou um resultado bem melhor em termos de aumento de corrente quando aplicado para a análise de 4-CLA.

Realizando as comparações do GCE modificado com LD-MWCNT e SD-MWCNT funcionalizados e não funcionalizados, é possível observar que a modificação com os nanotubos não funcionalizados são mais eficientes do que os funcionalizados, pois o sinal de corrente é maior. Essa relação é mais bem observada para o nanotubo SD-MWCNT, no qual o ganho de corrente foi bastante considerável em relação ao nanotubo SD-MWCNT funcionalizado. Já para o LD-MWCNT essa relação não é válida porque os sinais obtidos foram bem similares.

Estudos realizados anteriormente e que comprovam essa relação, demonstraram que a funcionalização com  $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$  removem as impurezas metálicas dos nanotubos não funcionalizados, pois introduz grupos oxigenados nas estruturas desses nanotubos. Portanto, a presença de impurezas metálicas (Fe e Co) nos MWCNTs não funcionalizados, promove uma

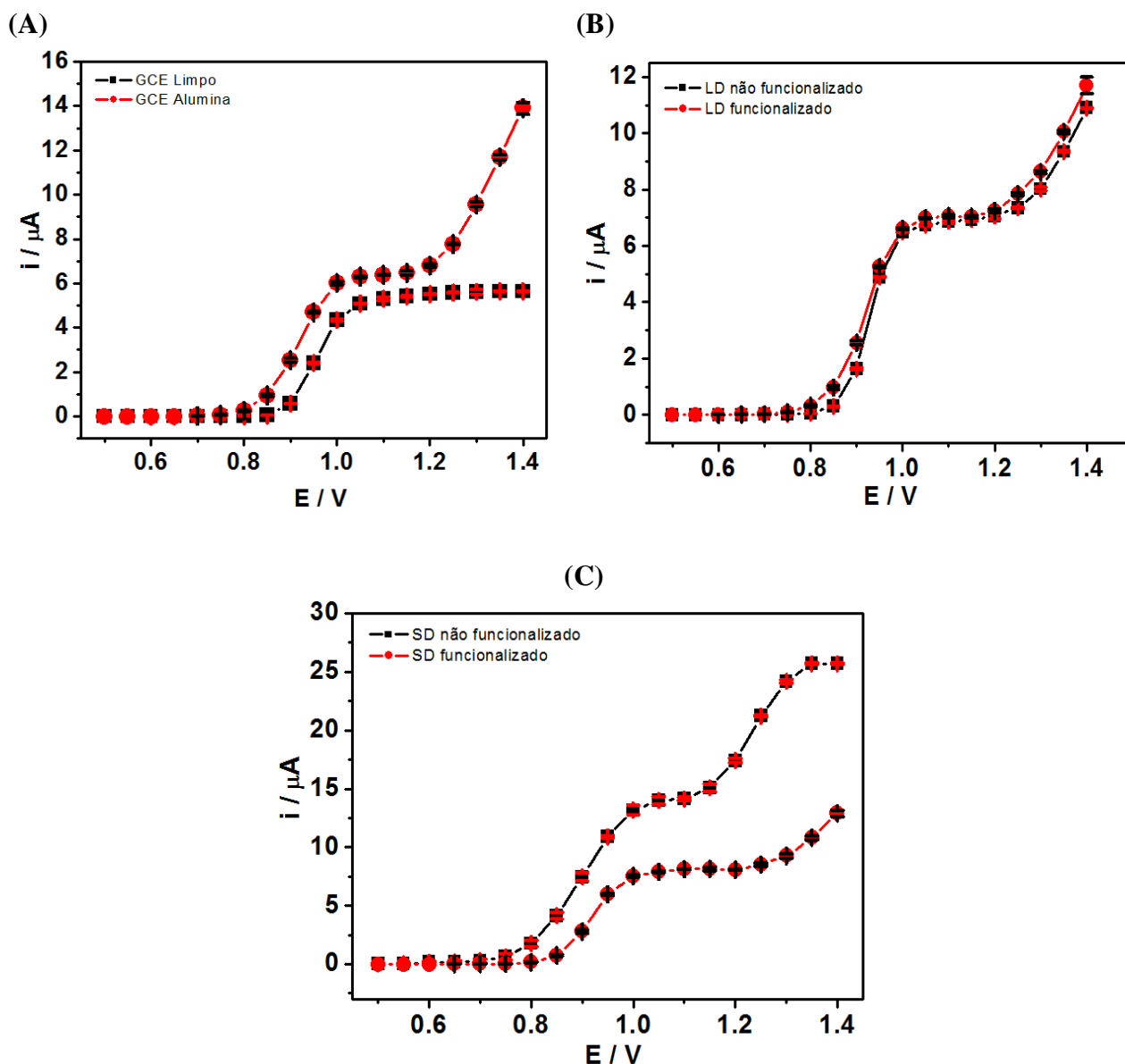
área eletroativa maior desempenhando um papel importante no aumento da sensibilidade dos sensores eletroquímicos [36]. Esse efeito não foi notado para o nanotubo LD-MWCNT, indicando que o processo de funcionalização não altera a estrutura dos nanotubos de maior diâmetro, o que consequentemente resulta na obtenção de resultados bem parecidos, em termos da aquisição do sinal de corrente.

## **4.2. Otimização dos Parâmetros do sistema BIA**

### **4.2.1. Hidrodinâmico e Estudo dos Potenciais**

Após o estudo de voltametria cíclica, foram realizados os estudos amperométricos no sistema BIA. Os estudos foram realizados separadamente, para GCE limpo e modificado com alumina, SD-MWCNT e LD-MWCNT funcionalizados e não funcionalizados. O objetivo desse estudo de potenciais foi investigar um potencial para ser fixado em todas as análises para 4-CLA. Sendo assim, 19 potenciais de 0,5 a 1,4 V foram selecionados, para os quais injeções em triplicata das soluções padrão utilizando como eletrólito suporte 0,1 mol L<sup>-1</sup> de solução tampão BR (pH 2,0) contendo 50 µmol L<sup>-1</sup> de 4-CLA, foram feitas para todos os casos. As comparações realizadas para os valores de corrente de pico, em GCE limpo e GCE modificado com alumina, SD-MWCNT e LD-MWCNT funcionalizados e não funcionalizados, são observadas na figura 8.

**Figura 8.** Voltamogramas hidrodinâmicos obtidos através das representações gráficas dos valores médios das correntes de pico de 50 µmol L<sup>-1</sup> de 4-CLA em função dos potenciais aplicados para (A) GCE limpo (■) e com alumina (●), (B) GCE/LD não funcionalizado (■) e GCE/LD funcionalizado (●) e (C) GCE/SD não funcionalizado (■) e GCE/SD funcionalizado (●). Eletrólito: 0,1 mol L<sup>-1</sup> de solução tampão BR (pH 2,0), volume de injeção de 100 µL e velocidade de injeção de 277 µL s<sup>-1</sup>.



Fonte: A autora

Em condições hidrodinâmicas, a corrente de oxidação de 4-CLA em eletrodo não modificado e eletrodo modificado começaram a aumentar em aproximadamente 0,80 V (figura 8). Na figura 8A a corrente do GCE com alumina é muito maior que do GCE limpo, pois possui uma maior transferência de elétrons na superfície do eletrodo. Na figura 8B a comparação entre a modificação com LD funcionalizado e não funcionalizado, demonstrou uma diferença bem pequena de corrente. Já na figura 8C a corrente para o SD não funcionalizado é bem maior que para o SD funcionalizado.

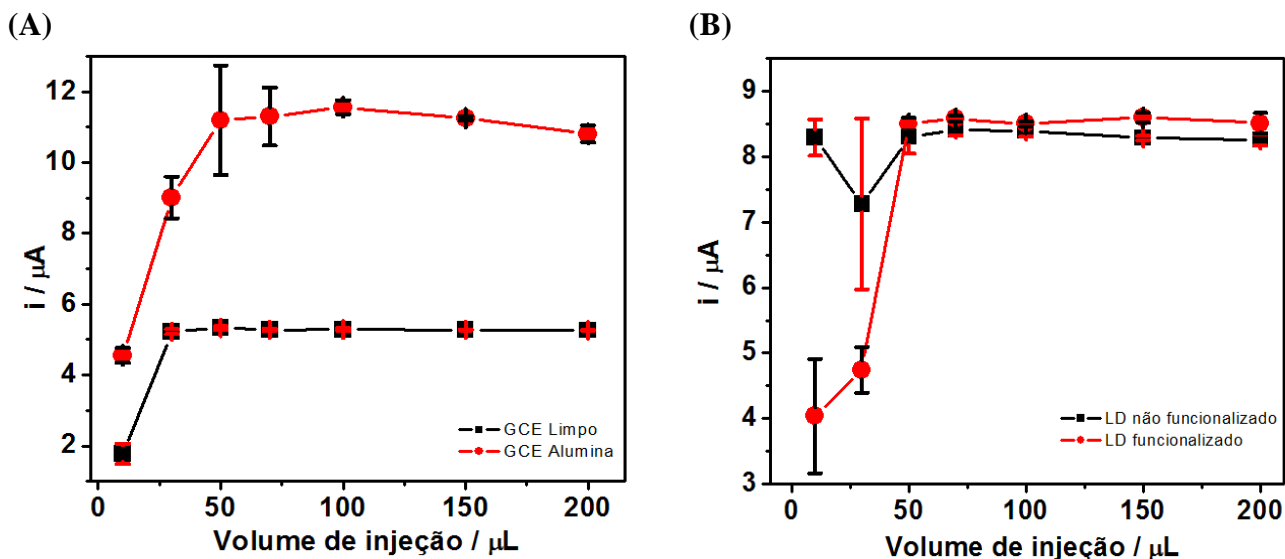
Então para a 4-CLA, nota-se que o GCE modificado com SD-MWCNT não funcionalizado proporcionou a maior corrente em relação às outras modificações e ao GCE limpo em todos os potenciais onde ocorre o processo de oxidação. Para obter melhores

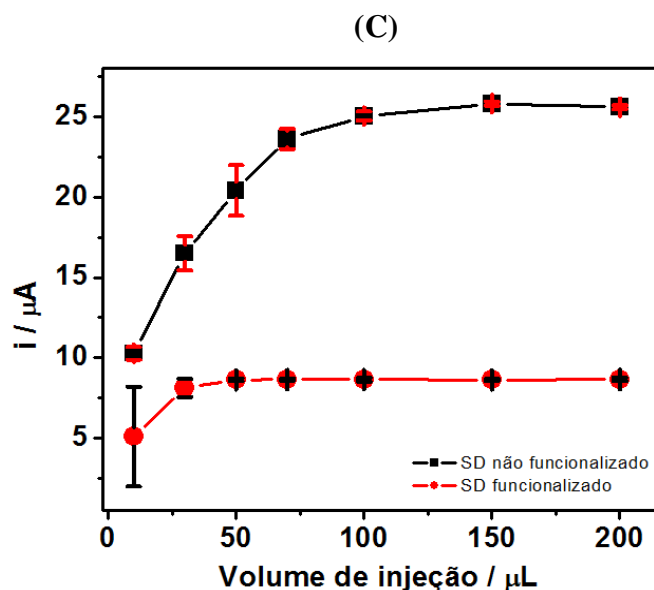
respostas em relação à sensibilidade e desvios padrões, o potencial de 1,3 V foi escolhido para as próximas análises amperométricas em potencial constante.

#### 4.2.2. Estudo do Volume Injetado

Para o estudo do volume injetado foram selecionados diretamente na pipeta eletrônica os volumes de 10, 30, 50, 70, 100, 150, 200  $\mu\text{L}$ , para os testes com GCE limpo e modificado com alumina, SD-MWCNT e LD-MWCNT funcionalizados e não funcionalizados. Fez-se o uso das soluções de 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$  de solução tampão BR (pH 2,0) e 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de 4-CLA. A velocidade de injeção de 277  $\mu\text{L s}^{-1}$  foi fixada neste estudo. Na figura 9 é possível observar os resultados obtidos pela análise do volume injetado para 4-CLA.

**Figura 9.** Estudo do volume injetado no sistema BIA utilizando (A) GCE limpo (■) e com alumina (●), (B) GCE/LD não funcionalizado (■) e GCE/LD funcionalizado (●) e (C) GCE/SD não funcionalizado (■) e GCE/SD funcionalizado (●). Injeções de 10, 30, 50, 70, 100, 150 e 200  $\mu\text{L}$  de solução padrão de 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de 4-CLA em solução de 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$  de solução tampão BR (pH 2,0), potencial de trabalho de 1,3 V e velocidade de injeção de 277  $\mu\text{L s}^{-1}$ .





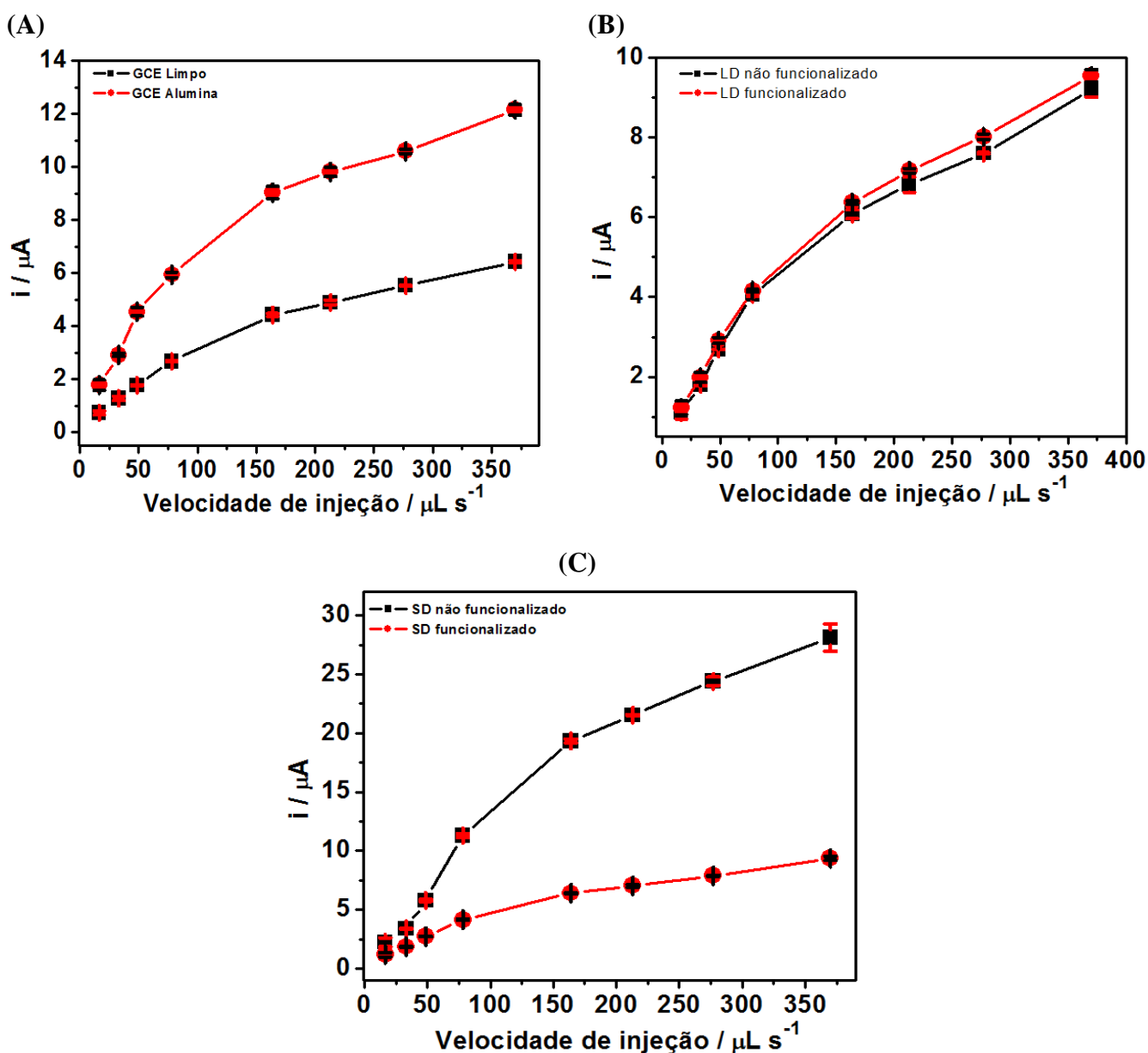
Fonte: A autora

Como observado na figura 9, o aumento do volume injetado causa um aumento na corrente de oxidação de 4-CLA de forma significativa até 50  $\mu\text{L}$  para o GCE limpo e modificado, acima deste valor a corrente aumenta de forma insignificante e a estabilidade dos sinais diminui. O volume de injeção para o GCE modificado com SD não funcionalizado possui o maior sinal de corrente, conforme observado na figura 9C. O volume injetado de 100  $\mu\text{L}$  foi selecionado, com o objetivo de consumir menos reagentes, obter repostas mais rápidas com menores efeitos de contaminação do eletrodo, conforme foi analisado em um trabalho anterior [3].

#### 4.2.3. Estudo da Velocidade de Injeção

Para o estudo da velocidade de injeção, foram selecionadas oito velocidades diretamente na pipeta eletrônica, sendo 1 a 8. Os valores de velocidade de injeção correspondentes a estas velocidades são, respectivamente: 17; 33; 49; 78; 164; 213; 277 e 370  $\mu\text{L s}^{-1}$ , e foram avaliados em função da resposta amperométrica do analito. O estudo de velocidade de injeção foi realizado para o GCE limpo e modificado com alumina, SD-MWCNT e LD-MWCNT funcionalizados e não funcionalizados. A velocidade de injeção corresponde à velocidade com que a solução contendo o analito entra em contato com a superfície do eletrodo [37]. Os resultados obtidos pelo estudo da velocidade de injeção são mostrados na figura 10.

**Figura 10.** Estudo da velocidade de injeção no sistema BIA utilizando (A) GCE limpo (■) e com alumina (●), (B) GCE/LD não funcionalizado (■) e GCE/LD funcionalizado (●) e (C) GCE/SD não funcionalizado (■) e GCE/SD funcionalizado (●), empregando as velocidades de injeção de 17; 33; 49; 78; 164; 213; 277 e 370  $\mu\text{L s}^{-1}$  para injeções em triplicata da solução padrão contendo 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de 4-CLA em solução de 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$  de solução tampão BR (pH 2,0), potencial de trabalho de 1,3 V.



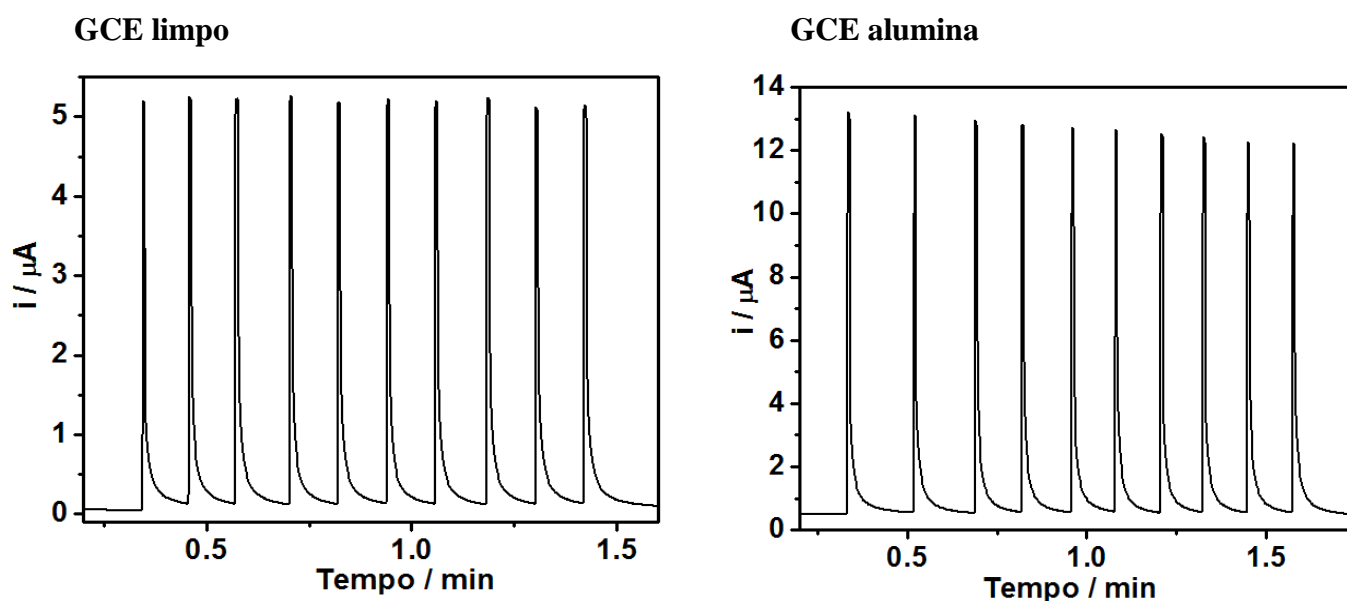
Fonte: A autora

Como mostrado na figura 10, observa-se que à medida que aumenta a velocidade de injeção, os valores de corrente tendem a aumentar, apresentando comportamentos diferentes. O GCE modificado apresentou valores de corrente maior em relação ao GCE limpo. Sendo que as maiores velocidades de injeção apresentaram maiores valores de correntes. Pelos gráficos, se escolheria a maior velocidade de injeção, porém para valores maiores de velocidade houve variações nos valores de corrente, sofrendo uma perda de reprodutibilidade. Sendo assim, a velocidade de injeção 7, que corresponde a  $277 \mu\text{L s}^{-1}$  foi fixada para todos os estudos seguintes no sistema BIA.

#### 4.3. Estabilidade das Modificações Realizadas em GCE: Repetibilidade

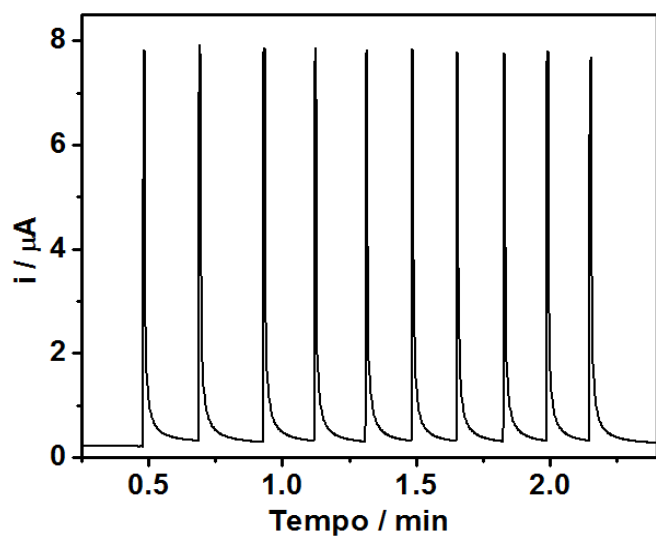
Após o estudo das otimizações, foi realizado o estudo da repetibilidade para o eletrodo modificado e sem modificação. O objetivo desse estudo é avaliar a eficiência e a estabilidade do sinal da 4-CLA no sistema BIA. O teste de repetibilidade foi realizado para 4-CLA em GCE limpo e modificado com alumina, LD-MWCNT e SD-MWCNT funcionalizados e não funcionalizados. Os estudos de repetibilidade para 4-CLA são mostrados na figura 11.

**Figura 11.** Repetibilidade no sistema BIA para GCE limpo e modificado com alumina, LD-MWCNT funcionalizado, LD-MWCNT não funcionalizado, SD-MWCNT funcionalizado e SD-MWCNT não funcionalizado. Com adição de  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  de 4-CLA em solução de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de solução tampão BR (pH 2,0). Potencial de trabalho de 1,3 V, volume injetado  $100 \mu\text{L}$  e velocidade de injeção de  $277 \mu\text{L s}^{-1}$ .

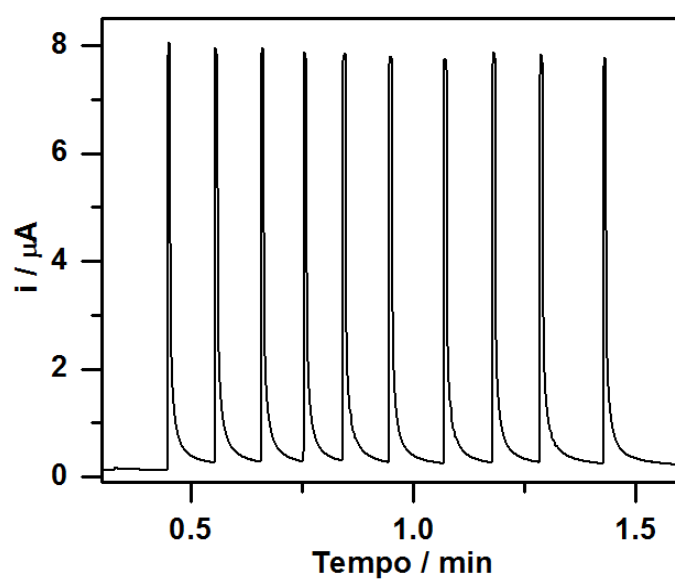




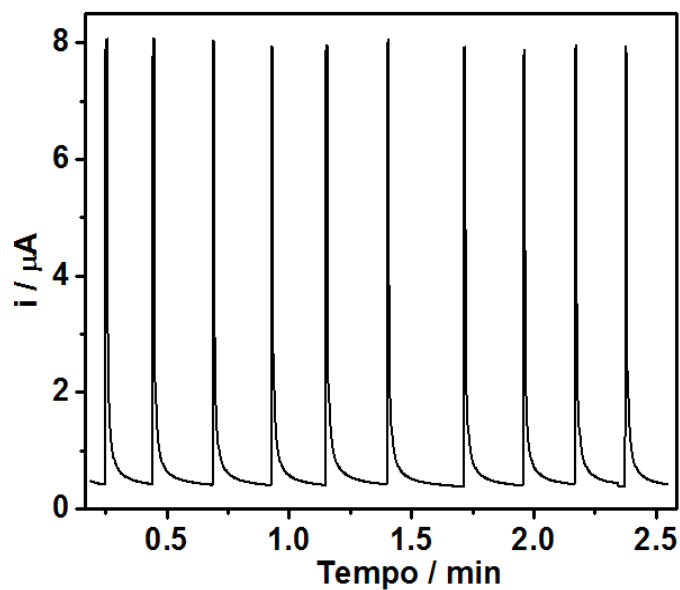
**LD-MWCNT funcionalizado**



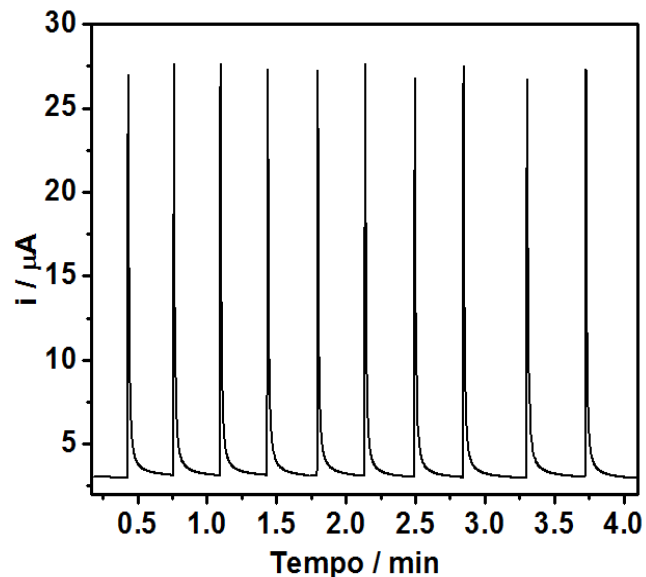
**LD-MWCNT não funcionalizado**



**SD-MWCNT funcionalizado**



**SD-MWCNT não funcionalizado**



Fonte: A autora

Como observado na figura 11, os estudos da repetibilidade tanto para o CGE limpo como para GCE modificado com alumina e com os CNTs resultaram em respostas reprodutíveis, ou seja, os sinais amperométricos obtidos alcançaram valores de corrente semelhantes, isso significa que não houve adsorção do analito no eletrodo. Os dados detalhados desse estudo encontram-se na tabela 2.

**Tabela 2.** Dados obtidos pelo estudo da repetibilidade em GCE limpo e GCE modificado com alumina, LD-MWCNT e SD-MWCNT funcionalizados e não funcionalizados.

<b>Eletrodos</b>	<b>Média i (<math>\mu\text{A}</math>)</b>	<b>Desvio Padrão (<math>\mu\text{A}</math>)</b>	<b>Desvio Padrão Relativo (%)</b>
<b>GCE limpo</b>	5,12	0,0526	1,03
<b>GCE Alumina</b>	13,15	0,3216	2,44
<b>LD-MWCNT func.</b>	7,89	0,0758	0,961
<b>LD-MWCNT não func.</b>	7,64	0,1217	1,59
<b>SD-MWCNT func.</b>	7,63	0,0961	1,26
<b>SD-MWCNT não func.</b>	24,23	0,3113	1,28

Valores de corrente significativos foram alcançados para as modificações feitas em GCE, levando em consideração o GCE não modificado. Os maiores valores de corrente foram obtidos para GCE modificado com SD-MWCNT não funcionalizado. As outras modificações do eletrodo também apresentaram valores consideráveis de corrente observados na tabela 2. A detecção de 4-CLA obteve desvios baixos, já que os valores de corrente para  $n=10$  foram praticamente semelhantes, levando a desvios padrões relativos bem baixos, isso mostra um sistema estável, reprodutível e eficiente.

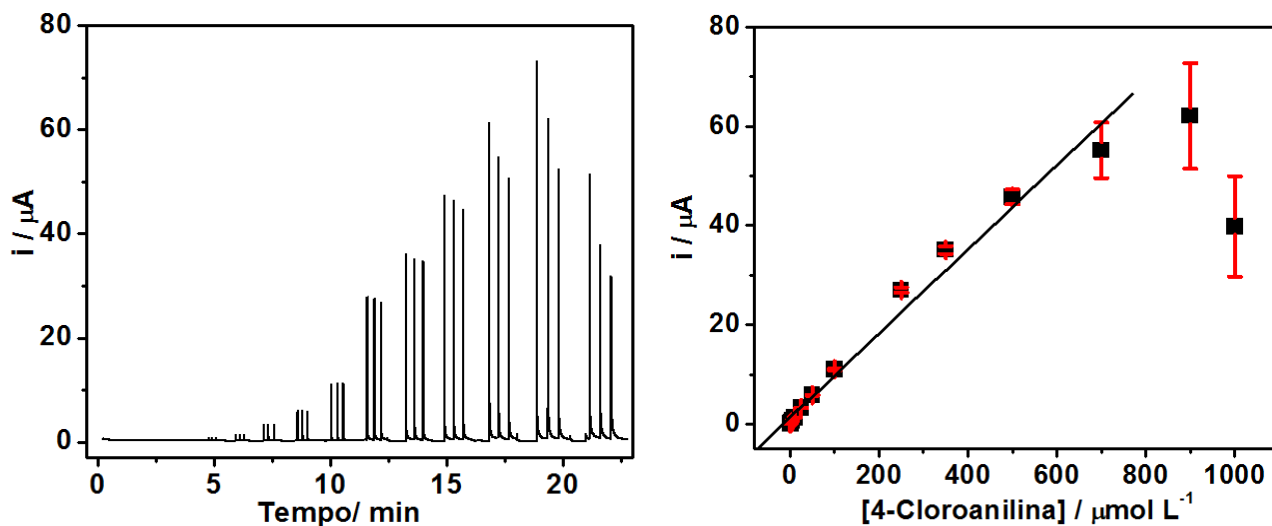
#### **4.4. Estudo da Faixa Linear de Trabalho**

Após os estudos das otimizações dos parâmetros no sistema BIA e da repetibilidade, realizou-se a construção das curvas analíticas por meio da injeção de solução padrão de 0,3; 0,5; 1,0; 3,0; 5,0; 10; 25; 50; 100; 250; 350; 500; 700; 900 e 1000  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de 4-CLA, utilizando como eletrólito suporte a solução de 0,1  $\text{mol L}^{-1}$  de solução tampão BR (pH 2,0). Esse estudo foi realizado para GCE limpo e modificado com alumina, LD-MWCNT e SD-MWCNT funcionalizados e não funcionalizados. Os amperogramas e as comparações das curvas analíticas para todas as modificações são representados na figura 12.

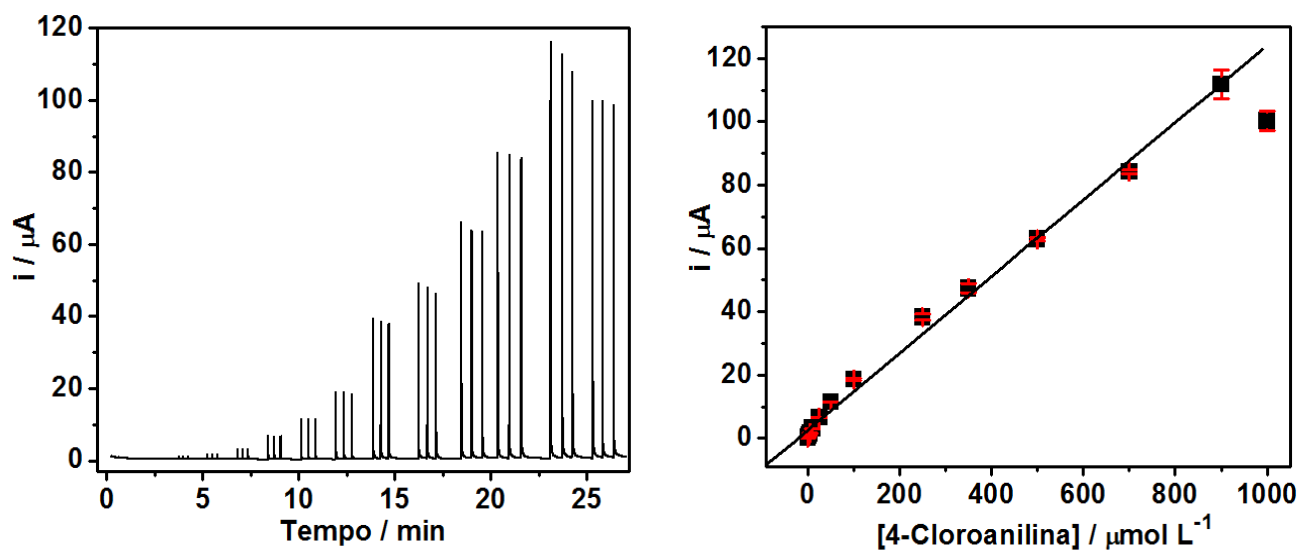
**Figura 12.** Respostas amperométricas obtidos em BIA, utilizando (A) GCE limpo, (B) GCE/alumina, (C) GCE/LD funcionalizado, (D) GCE/LD não funcionalizado, (E) GCE/SD funcionalizado e (F) GCE/SD não funcionalizado, para injeções em triplicata de soluções padrão de 0,3, 0,5, 1, 3, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 350, 500, 700, 900 e 1000  $\mu\text{mol L}^{-1}$

em  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de solução tampão BR (pH 2,0). Potencial: 1,3 V, volume injetado:  $100 \text{ }\mu\text{L}$  e velocidade de injeção:  $277 \text{ }\mu\text{L s}^{-1}$ .

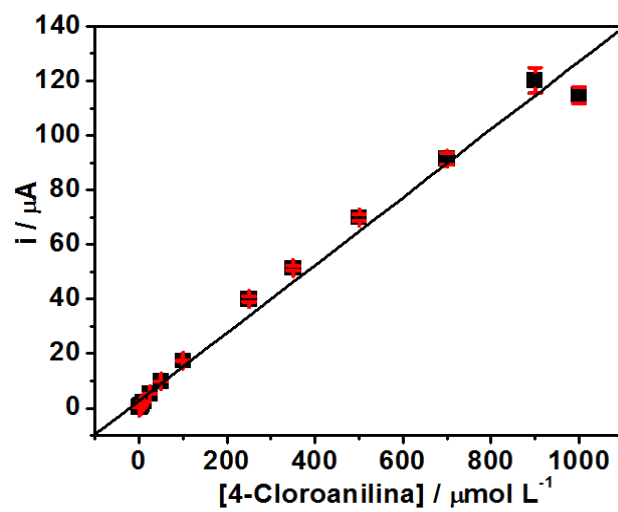
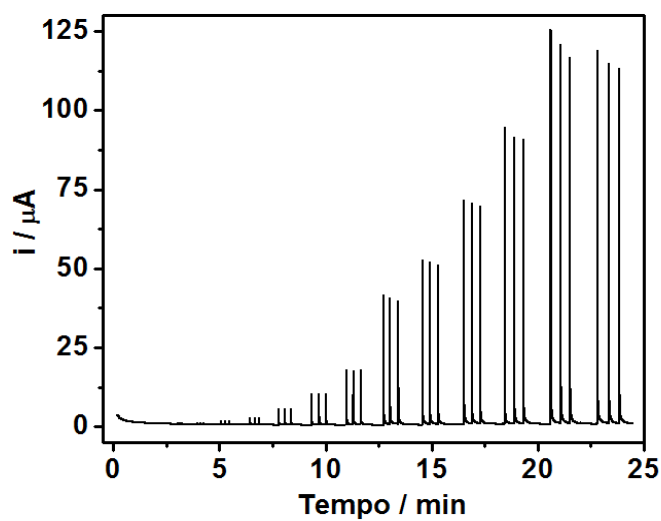
**(A) GCE limpo**



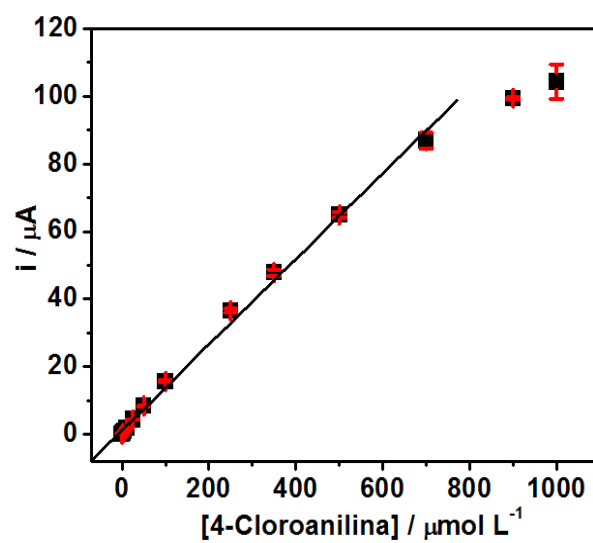
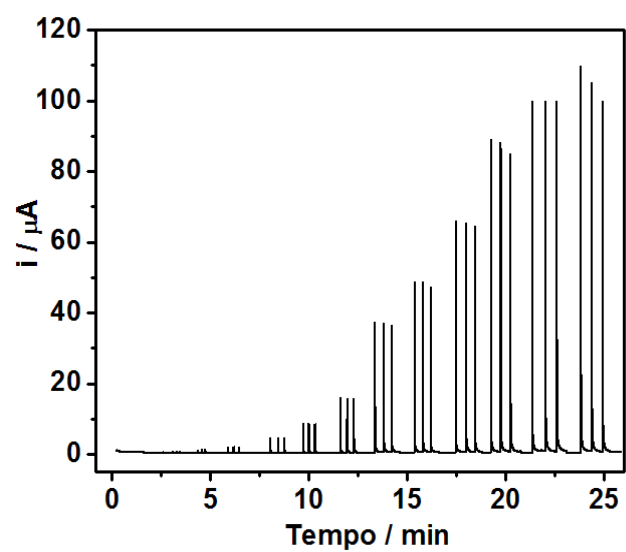
**(B) GCE/alumina**



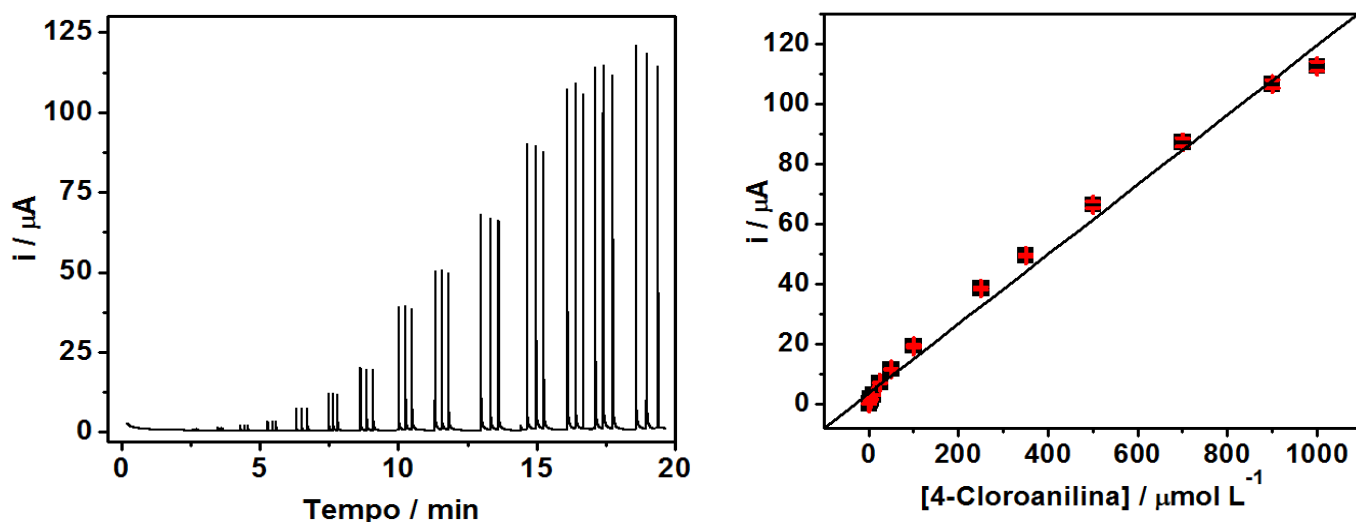
(C) GCE/LD funcionalizado



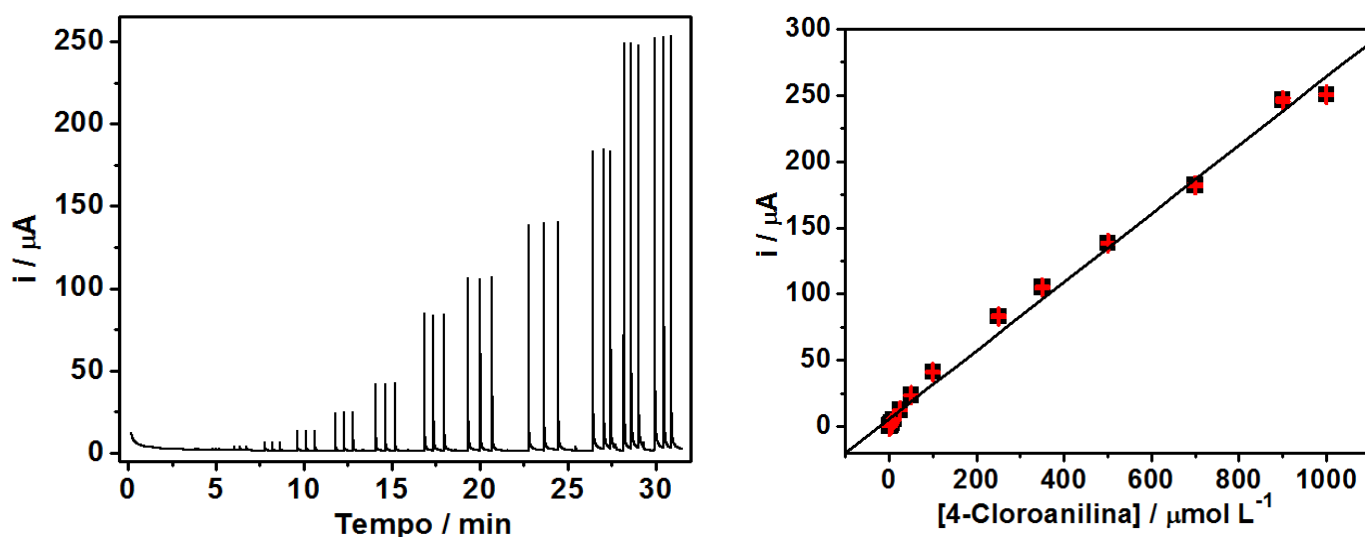
(D) GCE/LD não funcionalizado



**(E) GCE/SD funcionalizado**



**(F) GCE/SD não funcionalizado**



Fonte: A autora

Nota-se, na Figura 12, que todas as modificações levaram a um aumento de sensibilidade analítica em relação ao GCE limpo. É possível observar que nas concentrações acima de 700  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , nem sempre os sinais estiveram dentro da faixa linear, provocando alterações nos coeficientes de correlação das curvas. A tabela 3 apresenta todos os resultados obtidos pelo estudo das faixas lineares para 4-CLA.

**Tabela 3.** Resultados das análises das figuras de mérito para 4-CLA no sistema BIA, obtidos em GCE limpo e modificado com alumina, LD-MWCNT e SD-MWCNT funcionalizados e não funcionalizados.

<b>Eletrodos</b>	<b>Faixa Linear</b> ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	<b>Sensibilidade</b> ( $\mu\text{A L } \mu\text{mol L}^{-1}$ )	<b>R</b>	<b>DL</b> ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	<b>QL</b> ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )
<b>GCE</b>	0,3 - 700	0,0847	0,9912	0,14	0,472
<b>Alumina</b>	0,3 - 900	0,1214	0,9973	0,027	0,089
<b>LD func.</b>	0,3 - 900	0,1243	0,9942	0,042	0,140
<b>LD não func.</b>	0,3 - 700	0,1266	0,9981	0,031	0,103
<b>SD func.</b>	0,3 - 900	0,1158	0,9953	0,044	0,146
<b>SD não func.</b>	0,3 - 1000	0,2582	0,9966	0,021	0,071

DL =  $3_{sB}/S$  ( $sB$ - desvio padrão do ruído linha base e  $S$ - coeficiente angular da curva analítica). QL=  $10_{sB}/S$ , segundo as normas da IUPAC [37].

Como observado na tabela 3, as modificações em GCE apresentaram sensibilidades superiores em relação ao uso do GCE não modificado, além de terem alcançado uma linearidade considerável. O uso do GCE modificado proporcionou um aumento considerável na sensibilidade que é representado pelo coeficiente angular das curvas analíticas. Quanto maior o valor desse coeficiente maior é a sensibilidade, dessa forma observa-se que a maior sensibilidade foi obtida para o GCE modificado com SD-MWCNT não funcionalizado, seguido do LD-MWCNT não funcionalizado e funcionalizado e da modificação com alumina. Além disso, os valores de DL e QL foram bem baixos, proporcionando vantagens em relação às modificações do eletrodo. Dessa forma, quanto menor o DL mais eficiente se torna o sensor, pois é um parâmetro que aumenta sua aplicabilidade.

A condutividade é um fator importante e está relacionada com a maior sensibilidade obtida para a modificação com SD-MWCNT em relação ao LD-MWCNT. A condutividade de nanomateriais depende do diâmetro e comprimento dos mesmos, ou seja, quanto menor o diâmetro e maior o comprimento maior será a condutividade elétrica do CNT [37,39]. Portanto, em comparação com os outros nanotubos, o LD possui diâmetro de 110-170 nm e comprimento de 5-9  $\mu\text{m}$ , já o SD possui um diâmetro de 6-9 nm e comprimento de 5  $\mu\text{m}$ , apresentando assim uma maior sensibilidade.

Comparando o eletrodo modificado com SD-MWCNT e LD-MWCNT funcionalizados e não funcionalizados, é possível observar que os nanotubos não funcionalizados, principalmente o SD obteve respostas bem melhores. Esse fato pode ser explicado pelo processo de funcionalização realizado com  $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$  que removem as impurezas metálicas dos nanotubos não funcionalizados, quando grupos oxigenados são introduzidos nas estruturas desses nanotubos. O estudo relacionado à presença de metais na superfície dos nanotubos de carbono foi realizado por (STEFANO et al., 2017) [36], no qual os nanotubos SD-MWCNTs funcionalizados e não funcionalizados foram avaliados frente a diferentes moléculas. Esse trabalho mostrou que o aumento da sensibilidade estava associado à presença de metais (Fe: 2,11 mg/g, Co: 1,15 mg/g e Mo: 0,261 mg/g) na superfície dos nanotubos e que o processo de funcionalização realizado por meio de tratamento ácido é capaz de remover essas impurezas metálicas dos nanotubos. Após o processo de funcionalização a concentração dos metais diminui drasticamente (Fe: 0,0097 mg/g, Co: <0,002 mg/g e Mo: <0,002 mg/g) justificando assim a diminuição da detectabilidade das diferentes moléculas analisadas. Sendo assim, a presença de impurezas metálicas nos MWCNTs não funcionalizados promovem um aumento na sensibilidade desses sensores e consequentemente um aumento de corrente principalmente em relação ao SD funcionalizado.

Os mesmos metais presentes no SD-MWCNT também estão presentes no LD-MWCNT não funcionalizado (Fe: 2,75 mg/g, Co: 1,52 mg/g e Mo: 0,47 mg/g), o processo de funcionalização foi suficiente para remover as impurezas metálicas (Fe: 0,04 mg/g, Co: <0,002 mg/g e Mo: <0,002 mg/g), no entanto, não houve uma diferença em relação ao LD funcionalizado, ocasionando resultados bem parecidos em se tratando da aquisição dos sinais analíticos. Esses resultados (ainda não publicados) entram em contradição com os resultados obtidos por STEFANO et al., 2017, utilizando o nanotubo SD-MWCNT, e demandam de mais testes para serem explicados. Possivelmente, outros fatores além das impurezas metálicas nos CNTs devem contribuir para aumento em sensibilidade analítica.

O eletrodo com alumina apresentou resultados bem mais satisfatórios em relação ao eletrodo limpo, pois houve aumento na corrente indicando uma boa transferência de elétrons. Um estudo realizado anteriormente confirmou que esses resultados demonstram que partículas de  $\text{Al}_2\text{O}_3$  disponíveis comercialmente para o polimento de eletrodos podem ser usadas para desenvolver sensores eletroquímicos altamente sensíveis, reproduzíveis e estáveis, mas também indicam que o polimento de eletrodos pode gerar respostas eletroquímicas melhores atribuídas a “superfícies limpas” [30]. A alumina também garantiu uma boa sensibilidade, sendo esse resultado bem próximo dos nanotubos funcionalizados,

principalmente do LD funcionalizado e não funcionalizado que não houve muitas diferenças e as sensibilidades foram bem próximas. Portanto, a modificação com alumina foi muito boa em relação aos nanotubos, além de ser muito vantajosa, porque consiste em um tempo menor de modificação, sendo que a mesma é realizada somente pelo polimento do eletrodo. Além disso, trata-se de um material de mais baixo custo comumente encontrado nos laboratórios onde medidas eletroquímicas são realizadas.

## 5. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que os objetivos propostos foram alcançados e a metodologia empregada para determinação da 4-CLA, utilizando a modificação de GCE com alumina, e SD-MWCNT e LD-MWCNT funcionalizados e não funcionalizados, proporcionou diversas vantagens, como altas sensibilidades devido ao aumento de corrente, baixos DL e baixos desvios padrões, em comparação com a não modificação do GCE. Através do sistema de análise BIA foi possível estudar os diversos parâmetros quanto a 4-CLA possibilitando inúmeras vantagens, como fácil execução dos experimentos, possibilidade de realização de medidas utilizando uma mesma solução, volumes muito baixos de analito e baixos tempos de análise.

As respostas para o eletrodo modificado com os nanotubos funcionalizados SD-MWCNT não obtiveram resultados melhores em relação aos não funcionalizados, pois o tratamento ácido permitiu a remoção dos metais presentes em sua estrutura, o que diminuiu sua condutividade, conforme estudado em pesquisas anteriores. Os resultados para o LD-MWCNT, se mostraram eficientes, mas contraditórios com a literatura. A modificação com alumina foi bem vantajosa em relação as modificações com os nanotubos, pois o tempo de modificação do eletrodo é bem menor e mais simples de ser realizada.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BOEHNCKE, A.; KIELHOM, J.; KNNECKER, G.; POHLENZ, C.; MANGELSDORF, I. 4-cloroaniline. **Fraunhofer Institute of Toxicology and Aerosol Research**, World Health Organization Geneva, 2003.
- [2] MONTES, R. H. O.; LIMA, A. P.; SANTOS, V. B.; VIDAL, D. T. R.; LAGO, C. L.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Carbon-nanotube amperometric sensor for selective



determination of 4-chloroaniline in commercial chlorhexidine solutions. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 231, p. 38-44, 2016.

[3] MONTES, R. H. O. **Efeito do tamanho de nanotubos de carbono de paredes múltiplas em sensores eletroquímicos para moléculas de interesse farmacêutico**. 2015. 176 p. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2015.

[4] VICENTE, E.; TOLEDO, M. C. de F. Desenvolvimento de metodologia para determinação de 4-cloroanilina em frangos por cromatografia gasosa - espectrometria de massas: análise em tecidos tratados com digluconato de clorhexidina após o processamento térmico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 23, 71–78, 2003.

[5] United States Pharmacopeia. *Monografia: Chlorehexidine Gluconate Oral Rinse*. 34th ed. Rockville, MD: **The United States Pharmacopeial Convention**, 2011.

[6] Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/>. Acesso em 18/02/2019.

[7] HART, J. P.; SMYTH, M. R.; SMYTH, W. F. Voltammetric determination of 2-, 3- and 4-chloroaniline in mixtures. **The Analyst**, 106(1259), 146, 1981.

[8] KATAOKA, H. Derivatization reactions for the determination of amines by gas chromatography and their applications in environmental analysis. **J. Chromatogr. A**, v. 733, p. 19-34, 1996.

[9] LIMA, A. P.; STEFANO, J. S.; MONTES, R. H. O. ; CUNHA, R. R. ; SILVA, L. A. J.; RICHTER, E. M.; MUÑOZ, R. A. A. Electrochemical Oxidation of Chlorhexidine and its Amperometric Determination by Flow-Injection Analysis. **Journal of the Brazilian Chemical Society** (Impresso), v. 25, p. 448-452, 2013.

[10] BRUM, C.B. **Análise química do precipitado formado na reação entre hipoclorito de sódio e digluconato de clorexidina**. Dissertação (Doutorado em Química) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

[11] BALUGERA, Z.G.; GOICOLEA, M.A.; BARRIO, R.J. Dtermination of 4-chloroaniline and 4-chlorophehyl Urea in Honey By Liquid Chromatography with Electrochemical Detection. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, 1997. 20(10): p.1591-1603.

[12] PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. de S.; KUBOTA, L. T. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Química Nova**, v.25(6a), p.1012-1021, 2002.

[13] ARDILA, J. A. **Determinação Voltamétrica de Fibratos em Formulações Farmacêuticas Utilizando Eletrodos de Carbono Vítreo Modificados com Nanotubos de**

**Carbono.** Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2012.

[14] FREIRE, P. G. **Desenvolvimento e Aplicação de Eletrodos Quimicamente Modificados com Nanotubos de carbono e Óxido de Zinco Nanoestruturado.** Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2015.

[15] MOSES, P. R.; WIER, L.; MURRAY, R. W. Chemically modified tin oxide electrode. **Analytical Chemistry**, 47(12), 1882–1886, 1975.

[16] SOUZA, M. de F. B. Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: uma breve abordagem. **Química Nova**, 20(2), 191–195, 1997.

[17] NASCIMENTO, V. B.; ANGNES, L. Eletrodos fabricados por “silk-screen”. **Química Nova**, 1998. 21: p. 614-629, 1998.

[18] SILVA, S.M. **Determinação simultânea de catecol e hidroquinona empregando um sensor seletivo à base de ftalocianina manganês e nanotubos de carbono.** Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal dos Vales do Jequetinhonha e Mucuri, Diamantina, 2013.

[19] MUSAMEH, M.; WANG, J.; MERKOCI, A.; LIN, Y. Low-potential stable NADH detection at carbon-nanotube-modified glassy carbon electrodes. **Electrochemistry Communications**, v.4, p. 743–746, 2002.

[20] IJIMA, S. Helical microtubules of graphitic carbon. **Nature**, v. 354, p.56–58,1991.

[21] KAVAN, L.; RAPTA, P.; DUNSCH, L.; BRONIKOWSKI, M.J.; WILLIS, P.; SMALLEY, R.E. Electrochemical tuning of eletronic structure of single-walled carbon nanotubes: In-situ Raman and vis-NIR Study. **J.Phys. Chem.B**. 105(44): 10764, 2001.

[22] Santos, D. P. **Determinação eletroquímica de fenóis após o processo de degradação de benzeno usando sensor à base de nanotubos de carnono-ftalocianina de cobalto.** Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

[23] MUSAMEH, M.; WANG, J.; MERKONI, A.; LIN, Y. Low-potential stable NADH detection at carbono-nanotube-modified glassy carbon electrode. **Electrochemistry Communications**, v. 4, p. 743-746, 2002.

[24] USLU, B.; OZKAN, S.A. Eletroanalytical application of carbono based electrodes to the pharmaceuticals. **Analytical Letters**, V.40, p. 817-853, 2007.

[25] CANEBA, G.T.;DUTTA, C.; AGRAWAL, V.; RAO, M. Novel Ultrasonic Dispersion of Carbon Nanotubes. **Journal of Minerals & Materials Characterization & Engineering**, 9(3): p.165-181, 2010.

- [26] SANO, M.; OKAMURA, J.; SHINKAI, S. Colloidal nature of single-walled carbon nanotubes in electrolyte solution: The Schulze-Hardy rule. **Langmuir**, 17(22): p. 7172-7173, 2001.
- [27] ZAK, J.; KUWANA, T. Electrooxidative catalysis using dispersed alumina on glassy carbon surfaces. *Journal of the American Chemical Society*, 104(20), 5514–5515, 1982.
- [28] ABREU, S. L. **Caracterização e Dispersão em Meio Aquoso da Alfa - Alumina com Tamanho de Partícula Submicrométrica e Nanométrica**. 2011. 80 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) - Rede Temática em Engenharia de Materiais, Ouro Preto, 2011.
- [29] KEELEY, G.P.; LYONS, M.E.G. The effects of thin layer diffusion at glassy carbon electrodes modified with porous films of single-walled carbon nanotubes. **Int.J. Electrochem. Sci.** 4 (2009) 794.
- [30] LIMA, A. P.; SOUZA, R. C.; SILVA, M. N. T.; GONÇALVES, R. F.; NOSSOL, E.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Influence of Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles structure immobilized upon glassy-carbon electrode on the electrocatalytic oxidation of phenolic compounds. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 262, 646–654, 2018.
- [31] SKOOG, D.A.H.; HOLLER, F.J.; NIEMAN, T.A. Principles of Instrumental Analysis. 5th ed. **Philadelphia: Saunders College Publishing**, 1998.
- [32] QUINTINO, M.S.M. Desenvolvimento de sensores eletroquímicos associados a batch injection analysis (BIA) para aplicações analíticas Instituto de Química. Tese (Doutorado em Química) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
- [33] WANG, J.; TAHA, Z. Batch Injection-Analysis. **Analytical Chemistry**, v. 63, p. 1053-1056, 1991.
- [34] QUINTINO, M.S.M.; ANGNES, L. Batch injection analysis: An almost unexplored powerful tool. **Electroanalysis**, v. 16, p. 513-523, 2004.
- [35] ZONG, Z., KIRSCH, L. E. Studies on the instability of chlorhexidine, part I: kinetics and mechanisms. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 101, n. 7, p. 2417-2427, 2012.
- [36] STEFANO, J. S.; ROCHA, D. P.; DORNELLAS, R. M.; NARCISO, L. C. D.; KRZYŻANIĄK, S. R.; MELLO, P. A.; MUNOZ, R. A. A. Highly sensitive amperometric detection of drugs and antioxidants on non-functionalized multi-walled carbon nanotubes: Effect of metallic impurities? **Electrochimica Acta**, 240, 80–89, 2017.
- [37] LIMA, A. P. **Caracterização Espectroscópica, Microscópica e Eletroquímica de Eletrodos Modificados com Diferentes Nanotubos de Carbono Para a Detecção de**

**Catecol e Dopamina.** Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.

[38] NOSSOL, E. **Novos eletrodos construídos a partir de diferentes nanoestruturas de carbono.** 2009. 153 p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

[39] HU, C.; ZHANG, Y.; BAO, G.; ZHANG, Y.; LIU, M.; WANG, Z. L. Diameterdependent voltammetric properties of carbon nanotubes. **Chemical Physics Letters**, v. 418, n. 4, p. 524-529, 2006.

[40] PEDROTTI, J. J.; ANGNES, L.; GUTZ, I. G. R. Miniaturized reference electrodes with microporous polymer junctions. **Electroanalysis**, v. 8, n. 7, p. 673-675, 1996.